

Aus dem Zahnärztlichen Institut
der Justus Liebig-Universität Giessen

Leitung: Professor Dr. Dr. A. Keil

Über den Einfluss von Tetracyclin (Reverin) auf das Molarenwachstum der Maus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
der
Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von
BERNHARD RAUSCHER
Zahnarzt aus Thun/Schweiz

1969

Aus dem Zahnärztlichen Institut
der Justus Liebig-Universität Giessen

Leitung: Professor Dr. Dr. A. Keil

Über den Einfluss von Tetracyclin (Reverin) auf das Molarenwachstum der Maus



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
der
Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von
BERNHARD RAUSCHER

Zahnarzt aus Thun/Schweiz

Aus dem Zahnärztlichen Institut

der Justus-Liebig-Universität Gießen

Leitung: Professor Dr. A. Keil

Über den Einfluss von Tetracyclin (Reverin)
auf das Molarenwachstum der Maus



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät

der

Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. H. Rettig

Referent: Prof. Dr. Dr. A. Keil

Korreferent: Prof. Dr. H. G. Schwarzacher

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS:

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	4
B. LITERATURÜBERSICHT	6
I. Definition und Geschichte der Tetracycline	6
II. Stoffwechselwirkungen und Anwendungsbereich der Tetracycline	7
1. Der antibiotische Wirkungsmechanismus	8
2. Der Einlagerungsmechanismus der Tetracycline in verkalkendem Gewebe	9
C. EXPERIMENTELLER TEIL	
I. Material und Methode	11
1. Tiermaterial und Tierhaltung	11
2. Tetracyclinmedikation und Blindversuch	11
3. Tötung, Fixierung und oberflächliche Färbung	13
4. Herstellung der mikroskopischen Präparate	13
5. Optische Geräte	14
II. Gewichtsmessungen und Wachstumsverlauf	15
III. Durchbruch der Molaren	19
IV. UV-fluoreszenz-mikroskopische Ergebnisse	24
1. Tetracyclinablagerung in den einzelnen Zahn- und Knochen-Hartgeweben	24
2. Dentinwachstum	32
3. Alveolarknochenwachstum	36
V. Fluoreszenz-Intensitätsmessungen mit dem MPV-Gerät der Firma LEITZ	40
1. Fluoreszenz-Intensitätsabfall (Dentin und Alveolar- knochen)	40
2. Vergleichende Fluoreszenz-Intensitätsmessungen (Dentin, Alveolarknochen, Schmelz und Zement)	42
D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	55
E. ZUSAMMENFASSUNG, SUMMARY	67, 69
LITERATURVERZEICHNIS	67

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Anregung zu vorliegenden, systematischen Untersuchungen an der wachsenden, jungen Maus über Tetracyclin-Einlagerung in Zähnen und Alveolarknochen, über Auswirkungen auf das allgemeine Wachstum (Gewichtszunahme) und die Molaren-durchbruchszeit erhielt ich durch vorausgegangene klinische Erfahrungen und experimentelle Arbeiten am hiesigen Institut (Keil et al.¹⁻⁵, 1963, 1965, 1966, 1967).

Keil¹ (1965) hat in mehreren Fällen, an äusserlich unauffälligen, aus orthodontischer Indikation extrahierten bleibenden Zähnen Tetracyclinnachweise über elf bzw. vier Jahre im Dentin führen können, die sich anamnestisch bestätigen liessen.

Die am hiesigen Institut vorliegenden tierexperimentellen Erfahrungen über Tetracyclineinlagerungen in Zähnen und Kieferknochen bei Meerschweinchen, (Frerk⁶, 1964 und Römer⁷, 1966) Hunden und Affen, (Keil und Skobakoff⁵, 1967) sowie die Arbeiten an Mäusen von Gaunt⁸⁻¹³ (1955-1967) und Cohn¹⁴ (1957), die Befunde der grundlegenden Arbeiten von Milch et al.^{15 u. 16} (1957 und 1958), dass bezüglich Organ- und Gewebespezifität der Tetracycline innerhalb der verschiedenen Spezies (Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde) merkliche Unterschiede nicht bestehen, haben die Wahl des geeigneten Tiermaterials entschieden erleichtert. 12 Stämme junger Mäuse (BLH) aus einer gewerblichen Zucht wurden eigens für den tierexperimentellen Teil der Arbeit weitergezüchtet. In dieser soll das von Eger et al.¹⁷ (1965) dem Odontologen zur Weiterbehandlung zugewiesene, zahnärztlich interessante Problem, die Tetracyclin-medikation während der Schwangerschaft und in den ersten Lebensjahren bei Kindern, im Tierversuch näher untersucht werden. Zu diesem Zwecke wurden die entwicklungsgeschichtlichen und morphologischen Daten aus Gaunt⁸⁻¹³ (1955 - 1964) und Cohn¹⁴ (1957) "The development of the molar teeth in the albino mouse" als Vergleich zu den tierexperimentellen Befunden herangezogen.

Das Herstellen von Zahn- und Knochenschnitten, welche für den UV-fluoreszenz-

mikroskopischen Nachweis von Tetracyclin bekanntlich unentkalkt bleiben müssen, bereitete dank dem Schneideverfahren von Jansen¹⁸ (1950), modifiziert nach König¹⁹ (1958) bei der Herstellung von Serienschritten unentkalkter Molaren und benachbartem Alveolarknochen der Kiefer nichtadulter Mäuse, keine besonderen technischen Schwierigkeiten. Auf eine dem Schneiden der Zahnpräparate vorausgehende, anspruchsvolle Einbettung in Methylakrylat wie dies von Eger²⁰ (1964) für den Tetracyclinnachweis in Knochengewebe und von Wenziker²¹ (1964) für Hart-Weichsubstanzpräparate empfohlen wird, konnte deshalb verzichtet werden.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit besteht im Weiteren darin, zu ermitteln, ob Reverin (Pyrrolidino-methyl-tetracyclin = PMTC) bei der Einlagerung in die Zahnhartsubstanz und in den Kieferknochen, das gleiche, ein ähnliches oder ein abweichendes Verhalten gegenüber den in der Literatur hauptsächlich beschriebenen, länger bekannten Tetracyclinen (wie Oxytetracyclin, Chlortetracyclin und Tetracyclin) aufweist. Andererseits wird der während den UV-fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen an Zahn- und Knochenpräparaten beobachtete, für Reverin regelmäßige Fluoreszenz-Intensitätsabfall näher beschrieben.

B. LITERATURÜBERSICHT

I. Definition und Geschichte der Tetracycline

Tetracycline zählen zu den bakteriostatisch wirksamen Breitspektrumantibiotika und zeichnen sich durch geringe Toxizität aus.

Allen unter den Allgemeinbegriff: "Tetracycline" fallenden, aus Streptomycesarten isolierten, halbsynthetisch oder rein biosynthetisch hergestellten Produkten ist das Grundgerüst 4-Dimethylamino-1, 4, 4a, 5, 5a, 6, 11, 12-oktahydro-3, 6, 10, 12, 12a-pentahydroxy-6-methyl-1, 12-dioxo-2-naphtacencarboxamid eigen.

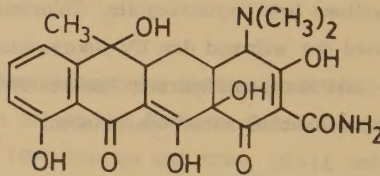


Abb. 1: Tetracyclin

1947 isolierte Duggar (Lederle) das Aureomycin = Chlortetracyclin aus Streptomyces aureofaciens.

Inzwischen ist eine Reihe weiterer Präparate entwickelt und therapeutisch nutzbar gemacht worden:

1949 Terramycin = Oxytetracyclin durch A.C. Finley (Pfizer)

1953 Achromycin = Tetracyclin durch J.H. Boothe und Mitarbeiter (Lederle) und L.H. Conover und Mitarbeiter (Pfizer)

1957 Ledermycin = Demethyl-chlor-tetracyclin durch Mc Cormick und Mitarbeiter (Lederle)

1958 Reverin = Pyrrolidino-methyl-tetracyclin durch E. Seidel und Mitarbeiter (Höchst)

(Näheres siehe Rauen (Herausgeber): Biochem. Taschenbuch, I. Teil, 694 - 696, 1964. und Brunner und Machek: Die Antibiotika I, 2. Teil, 311-625, 1964.)

II. Stoffwechselwirkungen und Anwendungsbereich der Tetracycline

Die Bedeutung der Tetracycline beschränkte sich vorerst allein auf ihre Anwendung als bakteriostatisch wirksame Infektabwehr.

Unerwünschte Nebenwirkungen, wie Gelb- und Braunverfärbungen an den Zähnen (Xanthodontie, Keil^{3 u. 4} (1966, 67)) (Schwachman und Schuster²², 1956), wie die Befunde der Arbeiten von Milch, Rall und Loo^{15, 16, 23}, (1957) über Tetracyclinablagerungen in Knochen und Tumorgewebe, lenkten jedoch das Interesse der wissenschaftlichen Forschung bald auf den Einbaumechanismus der Tetracycline in mineralisierendem Gewebe (Ibsen und Urist²⁴, 1963).

Die physikalische Eigenschaft der Fluoreszenz im UV-Licht (Saltzmann²⁵, 1950), sowie die Affinität zu bestimmten Geweben (Helander und Böttiger²⁶, 1953), erweiterten den Anwendungsbereich der Tetracycline, welche einerseits als Vitalfluorochrome in der klinischen Tumordiagnostik (Rall et al.²⁷, 1957), andererseits als fluoreszierende Markierungssubstanzen in der Histologie Verwendung finden (28 u. 29).

Zur Darstellung von Wachstumsvorgängen im Knochen (Frost et al.³⁰, 1960) wird den Tetracyclinen als Markierungsmittel gegenüber dem früher dazu verwendeten Alizarin rot (Vanderhoeft³¹, 1962) und dem radioaktiven Calcium (Ca⁴⁵) der Vorrang gegeben (Frost³², 1962).

Weniger Gewissheit besteht über die Wirkungsweise der Tetracycline auf Wachstumsvorgänge. Diese ist bekanntlich dosisabhängig (Harris³³, 1960) und führt

bei geringen Tetracyclingaben zu einem wachstumsstimulierenden Effekt während bestimmter Entwicklungsstadien (Pepper³⁴, 1953), bei hohen Tetracyclindosen dagegen zu Wachstumshemmung und Mineralisationsstörungen (Filippi und Mela⁵⁹ und Bevelander³⁵, 1959), die jedoch noch genauer histo-pathologischer Erforschung bedürfen.

Ferner wird über folgende nach Tetracyclinmedikation aufgetretenen Nebenwirkungen berichtet:

Allergische Affektionen in ca. 1 % behandelter Fälle (Dowling³⁶, 1955).

Verminderte Kariesanfälligkeit bei Ratten (Zipkin³⁷, 1960).

Lichtüberempfindlichkeit, Lockerung und Verfärbungen an Nägeln (De Verber³⁸, 1962).

1. Der antibiotische Wirkungsmechanismus

Es ist bekannt, dass Tetracycline in bakteriostatisch wirksamen Konzentrationen, ähnlich dem Chloramphenicol, in die Proteinsynthese der Mikroorganismen eingreifen, in der Hauptsache Bildung und Aufbau der Glutaminsäure beeinflussen (39, 40). Weiterhin konnte die Hemmung der NH_3 -Assimilation beobachtet werden (41). Die Hauptwirkung der Tetracycline auf den Proteinstoffwechsel stellt wahrscheinlich aber die beobachtete Störung des C^{14} -Leucintransportes zwischen spezifischen Ribonucleinsäureacceptoren und den Ribosomen dar, ein Vorgang, welcher die Proteinsynthese einleitet (42).

Gewisse Ionen dagegen scheinen die enterale Aufnahme von Tetracyclinen zu hemmen, ein gleichzeitig vorhandener Überschuss an Ca^{++} sogar die Aufnahme durch die Mikroorganismen zu verhindern (43).

Bei höheren Tetracyclingaben konnten Störungen oxidativer Vorgänge (44) sowie oxidativer Phosphorylierungsprozesse (45) sowohl an Mikroorganismen (46) als

auch an Säugetieren (47, 48) beobachtet werden.

Kompetitiv wirken bei diesen Vorgängen Mg^{++} (44) und Cystin (49).

2. Der Einlagerungsmechanismus der Tetracycline in verkalkendem Gewebe

Vergleichende Untersuchungen über Tetracycline und Ca^{45} als Markierungssubstanzen von Knochen haben gezeigt, dass Markierungen durch beide prinzipiell an gleichen Stellen erfolgten. Geringe Abweichungen beruhen lediglich auf einer unterschiedlichen Diffusionsgeschwindigkeit der verschieden grossen Moleküle (24, 50).

Tetracycline neigen zur Komplexbildung, sowohl mit organischen, als auch mit anorganischen Verbindungen. Diese wiederum neigen zur Chelatbildung und erscheinen dadurch stabiler. Mittels einer solchen Komplexbildung kann neugebildeter Knochen anscheinend Tetracyclin auf der Apatitkristalloberfläche an das Calcium binden.

Die Ablagerung der Tetracycline erfolgt sowohl im Knochen als auch im Zahn selektiv. Die hohe Affinität der Tetracycline zu neugebildetem Knochen ergibt sich grundsätzlich aus dessen grossen Verfügbarkeit an Calcium (52) und der damit verbundenen, erhöhten Reaktionsfähigkeit. Im neugebildeten Knochen sind die Apatitkristalle kleiner, weisen eine grössere Hydratationshülle und somit eine grössere Gesamtoberfläche im Vergleich zu älterem Knochen auf. Die Durchlässigkeit für Diffusionsvorgänge ist dagegen im älteren, dichter strukturierten Knochen geringer, speziell für die grossen Tetracyclinmoleküle. Diese Eigenschaft wird indirekt durch die geringere Dichte arterieller Gefässe, welche die Endstrecke auf dem Tetracyclintransportweg zum Einlagerungsort darstellen, noch verstärkt (24).

Im Knochen gebundene Tetracycline zeigen in Gegensatz zu in Lösung befindlichen Tetracyclinen polarisierte Fluoreszenz (51). Diese Tatsache erhärtet die Annahme einer definiert räumlichen Anordnung der Tetracycline in mineralisierendem Gewebe.

Urist und Ibsen²⁴ (1964) konnten ein Übereinstimmen der Fluoreszenzintensität, sowohl an "anorganischem" mit Aethylen-diamin-extrahierten Knochen in vitro, wie an normalem Knochen in vivo und in vitro nachweisen.

Damit darf angenommen werden, dass Tetracycline in mineralisierendem Gewebe, vorwiegend an Calciumapatitkristalle und nicht an die organische Matrix gebunden werden. Die Möglichkeit aber, dass dennoch ein gewisser Anteil von Tetracyclinen direkt oder über eine metallische Kation-Brücke mit der organischen Matrix in Verbindung tritt, ist damit nicht ausgeschlossen.

Aus den Untersuchungen von Eger et al.¹⁷ (1965) geht hervor, dass sich am Zahn beim Einbau von Tetracyclinen die gleichen Vorgänge wie im Knochen abspielen. Mineralisiertes Dentin und ausgereifter Schmelz nehmen kein Tetracyclin (mehr) auf.

Die hohe Affinität der Tetracycline zu proliferierenden Zellen und damit zu einer grossen Anzahl von Tumorgeweben, im Gegensatz zu normalem Gewebe, sowie die Bildung von Komplexen der Tetracycline mit Stoffwechselprodukten (Riboflavin-5-phosphat, Pyridoxin, Thiamin, Ascorbinsäure, Kreatinin und Harnstoff), wie mit Pharmaka (Alloxan, Barbitursäure, Coffein und Dimethyluracil), weisen deutlich auf die Komplexität des physiologisch-chemischen Verhaltens der Tetracycline innerhalb von Stoffwechselprozessen, welche weiterer Klärung bedarf (24).

C. EXPERIMENTELLER TEIL

I. Material und Methode

1. Tiermaterial und Tierhaltung

Weibliche Mäuse (BLH) mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von 14-18 g, 50-60 Tage alt, wurden unter weitgehend konstanten Bedingungen gehalten (50-60 Tage alte Tiere sind geschlechtsreif, aber noch nicht ausgewachsen).

Raumtemperatur und relative Luftfeuchtigkeit betrugen zwischen 22° und 25° C bzw. 55-60 %.

Tierhaltung bei gleichbleibendem Tageslicht und gleichbleibendem Standort in Kunststoffkäfigen. (Plastibox, Macrolon, V+L, Grösse A, Bodenfläche: 23/20) Fütterung und Wasser ad libitum. (Pelettiertes Standardfutter: Altromin.)

Nach zehntägiger Eingewöhnung wurden jeweils 2 weibliche Tiere mit einem geschlechtsreifen männlichen Tier zusammengebracht. 2 Tage danach wurden die männlichen Tiere entfernt. 14 Tage nach Entfernung der männlichen Tiere, konnte anhand regelmässig durchgeführter Gewichtsmessungen das Eintreten oder Ausbleiben einer Trächtigkeit festgestellt werden. Die trächtigen Tiere wurden daraufhin einzeln in oben beschriebenen Käfigen untergebracht.

2. Tetracyclinmedikation und Blindversuch

Pyrrolidino-methyl-tetracyclin kam in Form des Präparates Reverin i.v. (Hoechst zur Anwendung.

Die Injektionslösungen wurden aus dem kristallinen Tetracyclinpräparat und aqua dest. pro injectione hergestellt.

In einem Vorversuch an 6 weiblichen Mäusen (BLH) 100-120 Tage alt, 32 g, wurde

die Toxizitätsgrenze für Reverin geprüft. Bei LD₅₀ (140 mg PMTC/kg Kö.gew./0,5 ml Injektionslösung) starben 4 Tiere in 2 bis 10 Minuten nach der Injektion, 2 Tiere überlebten diese Dosis.

In einem weiteren Vorversuch wurde 15 weiblichen und männlichen Mäusen eine Dosis von 40 mg PMTC/kg Kö.gew., i.p., in Äthernarkose, in 48-stündigen Intervallen 6 mal injiziert. Alle Tiere überlebten dabei die Injektionen. Diese Versuchsreihe am adulten Tier stellt zudem eine parallele Versuchsreihe zu den Haupt- und Blindversuchsreihen am Jungtier dar.

Als Injektionsdosis für die Hauptversuche wurde 40 mg (+ 10 mg) PMTC/kg Kö.gew. festgelegt.

Den weiblichen geschlechtsreifen Tieren wurde diese Dosis in Lösungen von 0,5 ml, während der Trächtigkeit 24 Stunden vor der Geburt und während der Laktationsphase zu unterschiedlichen Zeiten (48- und 72-stündige Intervalle) in milder Äthernarkose intraperitoneal injiziert.

Den Jungtieren wurde in der Regel die gleiche PMTC-Dosis/kg Kö.gew. in Lösungen von 2 ml, vom 14. - 26. Lebenstag an, in konstanten Zeitabständen intraperitoneal injiziert. In den parallel geführten Blindversuchsreihen wurde zur Injektion physiologische NaCl-Lösung verwendet. Den weiblichen geschlechtsreifen Tieren wurden der PMTC-Medikation entsprechend gleiche Flüssigkeitsmengen physiologischer NaCl-Lösung nämlich 0,5 ml/Injektion, in analogen Zeitabständen in milder Äthernarkose intraperitoneal injiziert. Den wachsenden Jungtieren wurden der PMTC-Medikation entsprechend gleiche Flüssigkeitsmengen physiologischer NaCl-Lösung nämlich 0,2 ml/Injektion, in analogen Zeitabständen intraperitoneal injiziert.

Von insgesamt 63 mit PMTC-behandelten Jungtieren starben 2 Tiere kurz (3-5 Minuten) nach der Injektion. Von den insgesamt 23 mit physiologischer NaCl-Lösung behandelten Jungtieren aus der Blindversuchsreihe überlebten alle die Injektionen.

3. Tötung, Fixierung und oberflächliche Färbung

Die Tötungszeiten der Jungtiere waren unterschiedlich und lagen zwischen dem 16. und dem 30. Lebenstag. In Äthernarkose wurden die Tiere dekapitiert. Anschliessend wurden die Mandibular- und Maxillarquadranten an den abgeschnittenen Köpfen getrennt und zusammen in gepuffertem Formalin (40 %) 24-48 Stunden, eventuell auch länger, fixiert.

Zur Festhaltung des Durchbruchstatus der Molaren zu bestimmten Tötungszeiten mit leicht bewaffnetem Auge, wurde die Mundschleimhaut in den zähnetragenden Bezirken des Ober- und Unterkiefers zur Kontrastierung mit Hämalaun oberflächlich gefärbt (Näheres siehe Abschnitt: Durchbruch).

4. Herstellung der mikroskopischen Präparate

Nach Fixierung im Formalin, liessen sich die Weichteile mit der Gingiva leicht von den Ober- und Unterkieferquadranten ablösen.

Zur Herstellung sagittaler Serienschnitten durch die Molarenreihen und den Molartragenden Alveolarknochen des Ober- und des Unterkiefers diente das von Jansen¹⁸ (1950) beschriebene nach König¹⁹ (1958) modifizierte Schneidverfahren. Mit einer diamantbelegten Phosphorbronze-folie können damit an unentkalkten Ratten- und Mäusezähnen, sagittale Serienschnitte hergestellt werden, zugleich können mit diesem Schneidverfahren Zahn und benachbarter Alveolarknochen im gleichen Schnitt zusammen erfasst werden. Dickenmessungen mit einer Schieblehre ergaben bei den für unsere Untersuchungen gewonnenen Zahnknochenschnittpräparaten Schnittdicken zwischen 50-100 μ m.

Über die Alkoholreihe und Xylol gelangten die Präparate in Eukitt zur Einbettung.

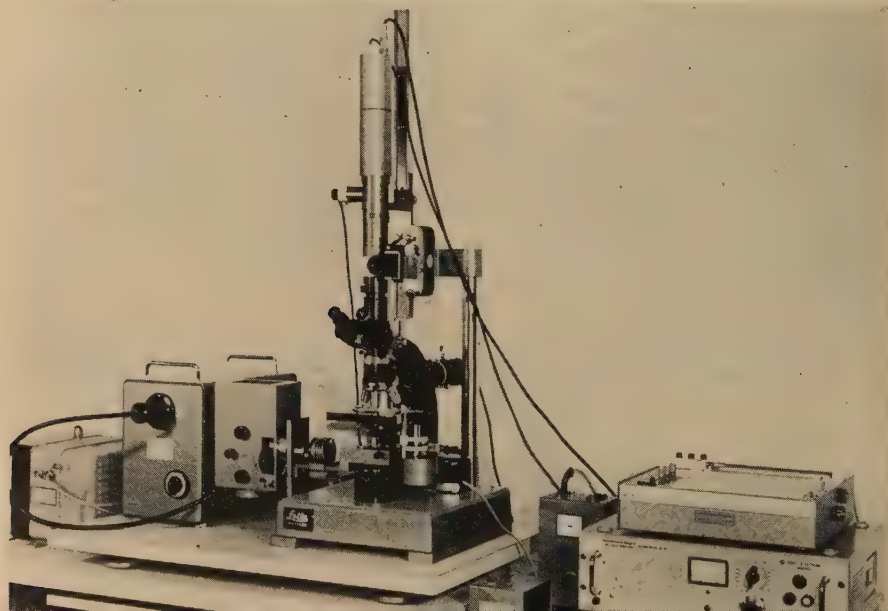
5. Optische Geräte

Mikroskopische Untersuchungen und Photographien sind mit dem Ortholux und der vollautomatischen Mikroaufsatzkamera Orthomat der Firma ERNST LEITZ durchgeführt worden. Als Lichtquelle diente die Quecksilberhöchstdrucklampe 250 CS 150 W. Es wurden sowohl die Erregerfilter BG 12 (1,5) und BG 12 (Blau) in Verbindung mit einem blau-abs. Sperrfilter, als auch die Filterkombination BG 38 (Blau) und UG 1 (UV) mit UV-abs. Sperrfilter verwendet.

Für Untersuchungen der Präparate bei schwacher Vergrößerung stand der Aristophot der Firma ERNST LEITZ zur Verfügung in Verbindung mit dem Lampenhaus 250 CS 150 W.

Die Fluoreszenz-Intensitätsmessungen konnten mit dem Mikroskop-Photometer MPV in der Ausführung für fluorometrische Messungen (objektiv registrierend) im Mikro-Labor der Firma ERNST LEITZ durchgeführt werden (siehe Abb. 2). Für die Blauanregung diente ein BG 12,5 mm und als Sperrfilter K 530, für die UV-Anregung UG 1, 3 mm mit Sperrfilter K 430.

Abb. 2:



II. Gewichtsmessungen und Wachstumsverlauf

Gewichtsmessungen an den wachsenden Jungtieren wurden vom 12. bis zum 28. Lebenstag täglich in 24-stündigen Intervallen vorgenommen (± 2 h). Dabei wurden die Gewichtsmittelwerte der jeweiligen Würfe ermittelt und tabellarisch festgehalten (Tab. 1). Die Anzahl der Jungtiere pro Wurf lag bei unseren Versuchstiergruppen zwischen 7 und 10. Aus den Messwerten von Versuchstiergruppen gleicher Versuchsanordnung konnten anschliessend nochmals Mittelwerte gebildet werden, welche in Graphik 1 als Wachstumskurven dargestellt sind.

Die für 3 mit PMTC behandelte Stämme zu jeder Messzeit (alle 24 h) errechneten Gewichtsmittelwerte sind als Mittelwertreihe R_1 in Tab. 2 aufgeführt und in Graphik 1 als Wachstumskurve K_1 dargestellt.

Analog wurden die Mittelwerte aus 3 mit physiologischer NaCl-Lösung behandelten Stämme als Mittelwertreihe R_2 aufgeführt und als Wachstumskurve K_2 dargestellt.

Ein Vergleich der Kurven K_1 und K_2 lässt ein sehr ähnliches Verhalten leicht erkennen. Beide Kurven verlaufen annähernd parallel und überschneiden sich zudem an 3 Stellen.

Beim Vergleich der entsprechenden Mittelwertreihen R_1 und R_2 (Tab. 2), kann an hand des Mediantestes (vgl. Lienert⁵³, 1962) zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied beobachtet werden.

Auch beim Vergleich einer dritten Mittelwertsreihe R_3 (Tab. 2) gebildet aus den Gewichtsmittelwerten eines Jungtierstammes, welcher PMTC während der gesamten Versuchsdauer allein über die Muttermilch erhielt, können anhand des Mediantestes, sowohl zu R_1 , als auch zu R_2 keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden, obschon die Gewichtsmittelwerte von R_3 , dargestellt als Wachstumskurve K_3 in Abb. 3, vom 22. Lebenstag an deutlich über denjenigen der Messreihen R_1 und R_2 liegen.

	1	2	3	4	5	6
12. Tag:	5,3			6,3	5,0	
13.	5,7	6,1	5,2	6,4	5,0	5,2
14.	6,0	6,3	5,3	6,6	5,3	5,6
15.	6,4	6,7	5,4	7,3	5,6	5,9
16.	6,7	6,7	5,8	7,8	5,9	6,3
17.	7,0	7,2	5,6	7,9	6,1	6,3
18.	7,3	7,1	5,9	8,0	6,3	6,8
19.	8,0	7,8	5,8	8,6	6,7	7,1
20.	8,5	7,9	6,9	9,1	7,2	7,7
21.	9,3	8,4	7,2	9,5	7,5	8,1
22.	9,5	8,8	8,2	10,0	7,9	8,9
23.	9,5	9,3	8,4	10,1	8,3	8,9
24.	10,0	9,7	8,8	10,9	8,7	9,6
25.	10,3	10,4	9,3	11,6	9,2	9,8
26.	10,3	10,7	10,3	12,3	9,5	10,0
27.		11,1	10,7	13,0	10,0	10,5
28.		11,2	11,0		10,5	

Tab. 1: Gewichtsmittelwerte in g der einzelnen Würfe (1-6)
am jeweiligen Lebenstag (12.-28. Tag)
1-3: mit PMTC (i.p.) behandelte Tiere (Hauptversuch)
4-6: mit physiologischer NaCl-behandelte Tiere (i.p.)
(Blindversuch)

	R_1	R_2	R_3
12. Tag:	(5, 4)	(5, 4)	5, 4
13.	5, 5	5, 7	5, 6
14.	5, 8	5, 9	6, 0
15.	6, 3	6, 2	6, 3
16.	6, 7	6, 4	6, 4
17.	6, 8	6, 6	6, 6
18.	7, 3	6, 8	7, 0
19.	7, 5	7, 2	7, 4
20.	8, 0	7, 8	8, 0
21.	8, 4	8, 3	8, 6
22.	8, 9	8, 8	9, 0
23.	9, 1	9, 1	9, 9
24.	9, 7	9, 5	10, 6
25.	10, 2	10, 0	11, 3
26.	10, 6	10, 4	12, 0
27.	(11, 2)	(10, 9)	14, 0
28.	(11, 7)	(11, 2)	

Tab. 2: Gewichtsmittelwertreihen (R_1 - R_3) aus Versuchstiergruppen gleicher Versuchsanordnung.

R_1 aus 3 mit PMTC (i.p.) behandelten Versuchstiergruppen.

R_2 aus 3 mit physiologischer NaCl-Lösung (i.p.) behandelten Versuchstiergruppen.

R_3 aus einer mit PMTC über die Muttermilch behandelten Versuchstiergruppe.

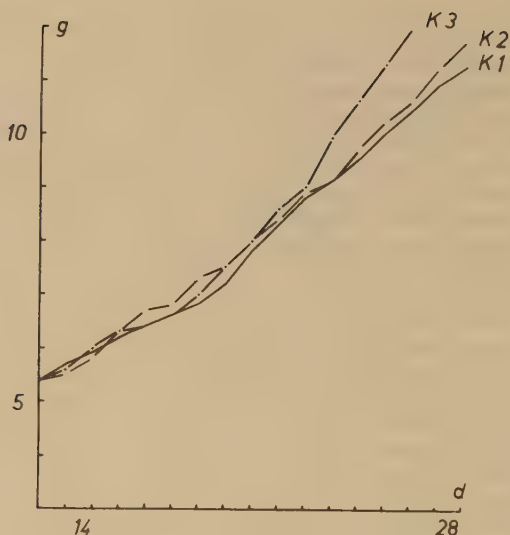


Abb. 3: Wachstumskurven von unterschiedlich behandelten Mäuse-Stämmen (BLH) nach Gewichtsmessungen in 24-stündigen Intervallen vom 12.-28. Lebenstag.

Ordinate: Gewicht (Mittel) der Tiere in g.

Abszisse: Messabstände in Tagen (d)

K₁: Gewichtsmittelwerte PMTC-behandelter Tiere (Injektion i.p. am Jungtier)

K₂: Gewichtsmittelwerte mit physiologischer NaCl-behandelter Tiere (Injektion i.p. am Jungtier)

K₃: Gewichtsmittelwerte PMTC-behandelter Tiere via Muttermilch (Injektion i.p. am Muttertier)

III. Der Durchbruch der Molaren (M_1 , M_2 und M_3)

Die Dentition der weissen Maus ist monophyodont mit der Zahnformel:

$$J \frac{1}{1} C \frac{0}{0} P \frac{0}{0} M \frac{3}{3}$$

bei einem Total von 16 Zähnen.

Der Durchbruch der Molaren erfolgt hintereinander zu verschiedenen Zeitpunkten während der Entwicklung (Wachstum). Zuerst brechen die ersten Molaren durch, gefolgt von den zweiten und anschliessend den dritten Molaren (vgl. Tab. 3).

Die ersten Molaren sind am größten, die dritten am kleinsten.

Die Höckeranzahl beträgt bei allen drei oberen Molaren 3. Bei den unteren Molaren hat M_1 5 Höcker, M_2 4 Höcker und M_3 3 Höcker (vgl. Tab. 3).

Molaren

	M_1	M_2	M_3
Durchbruch in die Mundhöhle:	vom 16. bis zum 17. Tag	vom 18. bis zum 19. Tag	vom 28. bis zum 29. Tag
Anzahl der Höcker oben/unten:	3/5	3/4	3/3

Tab. 3: Aus: Zusammenfassung der entwicklungsgesch. und morphologischen Eigenschaften der Molaren aus "Development of the molar teeth in the albino mouse" Cohn¹⁴ (1957)

Die Beobachtung über den Durchbruchzustand der Molaren erfolgte am getöteten Tier mittels einer binokularen Lupe (30fach). Die Mundschleimhaut der zähnetragenden Bezirke des Ober- und Unterkiefers wurde zur Kontrastierung mit Häma-laun oberflächlich gefärbt (vgl. Abb. 4 u. 5).

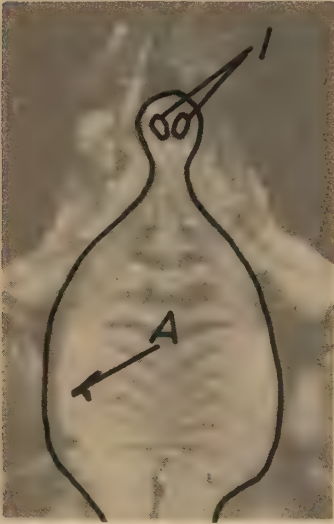


Abb. 4: Oberkiefer (Maus), 16 Tage alt.
Oberflächliche Häma-laun-Färbung.
Inzisiven durchgebrochen
A = Schleimhautdefekt (Artefakt).

Ein Molar wurde als im Durchbruch zur Mundhöhle befindlich gewertet, sobald dieser die oberste Schicht des Mundschleimhautepithels durchbrochen hatte und eine Mundschleimhautöffnung über der Oberfläche eines Molarenhöckers erkannt werden konnte.

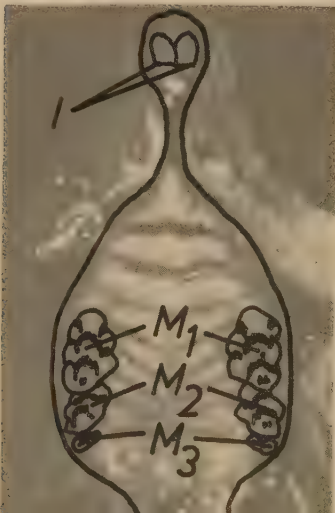


Abb. 5: Oberkiefer (Maus), 26 Tage alt.
Oberflächliche Häma-laun-Färbung
Inzisiven und Molaren (M_1 , M_2 und M_3)
durchgebrochen.

Der Durchbruch von M_1 konnte am 16. Tag bei einem von 4 mit PMTC-behandelten Tieren und einem von 2 mit physiolog. NaCl-Lösung-behandelten Blindversuchstiere festgestellt werden (vgl. Abb. 4 u. 6).

Am 17. und 18. Tag war M_1 bei allen untersuchten Tieren - je 3 im Haupt- und Blindversuch - durchgebrochen.

Der Durchbruch von M_2 konnte am 18. Tag bei einem von 2 mit PMTC-behandelten Tieren und einem mit physiolog. NaCl-behandelten Blindversuchstier festgestellt werden (vgl. Abb. 6).

Am 19. Tag war M_2 bei allen untersuchten Tieren - je 10 im Haupt- und 7 im Blindversuch - durchgebrochen.

Der Durchbruch von M_3 konnte am 26. Tag bei 6 von 9 mit PMTC-behandelten Tieren und einem von 2 mit physiolog. NaCl-behandelten Blindversuchstier festgestellt werden,

am 27. Tag bei 7 von 8 mit PMTC-behandelten Tieren und 3 mit physiolog. NaCl-behandelten Blindversuchstieren.

Am 28. und 29. Tag. war M_3 bei allen untersuchten Tieren - je 9 im Haupt- und 3 im Blindversuch - durchgebrochen (vgl. Abb. 5 u. 6).

Die Durchbruchsbefunde an M_1 , bei 12 dahin untersuchten Tieren, sowie an M_2 , bei 29 dahin untersuchten Tieren, entsprechen damit den aus Cohn¹⁴, 1957 aufgeführten Daten.

Die Durchbruchsbefunde an M_3 decken sich dagegen nicht mit diesen. Der Durchbruch von M_3 erfolgte bei unseren Tieren zu einem früheren Zeitpunkt: Am 26. Tag befindet sich M_3 bei 7 von insgesamt 11, am 27. Tag bei 10 von insgesamt 11, am 28. und am 29. Tag bei allen von insgesamt 15 untersuchten Tieren im Durchbruch.

Eine Abweichung in der Durchbruchsweise der Molaren konnte bei den mit PMTC-

behandelten Tieren im Gegensatz zu den mit physiolog. NaCl-Lösung-behandelten Blindversuchstieren in der Regel nicht festgestellt werden.

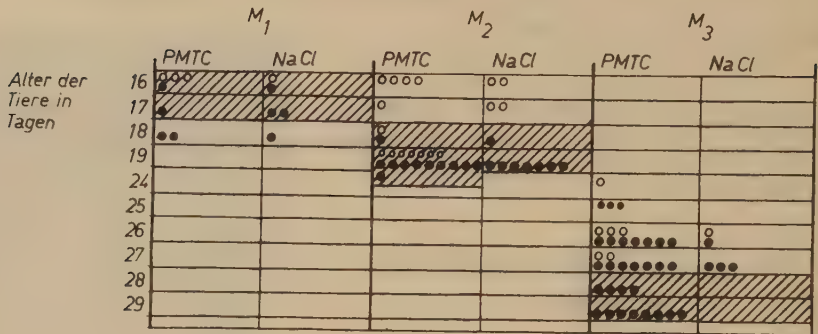


Abb. 6: Eigene Untersuchungsergebnisse über den Durchbruch der Molaren (M₁, M₂ und M₃) bei der weissen Maus (BLH)

Zeichenerklärung: Die schraffierten Felder bezeichnen die Durchbruchzeiten nach Cohn¹⁴ (1957) für die einzelnen Molaren.

In der linken Kolonne (PMTC) sind die Untersuchungsergebnisse an mit PMTC-behandelten Tieren für die jeweiligen Molaren M₁, M₂ oder M₃ eingetragen, in der rechten Kolonne (NaCl) die entsprechenden Untersuchungsergebnisse an mit physiologischer NaCl-Lösung im Blindversuch behandelten Tieren.

● Kreis (gefüllt) bedeutet, dass der entsprechende Molar in die Mundhöhle durchgebrochen ist.

○ Kreis (leer) bedeutet, dass der entsprechende Molar noch nicht in die Mundhöhle durchgebrochen ist.

Die als kleine Kreise (●○) aufgeführten Untersuchungsergebnisse stellen ein atypisches Durchbruchverhalten dar. Nähere Erläuterungen siehe im Text.

Eine noch feinere Abstufung des Durchbruches konnte durch Zählung der Anzahl durchgebrochener Höcker bei M_1 und M_2 ermittelt werden. M_3 ist für diese Unterscheidung zu klein.

Auch diese Untersuchungen zeigten einerseits kein unterschiedliches Verhalten zwischen mit PMTC behandelten Tieren (Hauptversuchsreihe) und mit physiologischer NaCl-Lösung behandelten Tieren (Blindversuchsreihe), andererseits war es sehr schwierig, Beziehungen zwischen dem Durchbruchzustand der Molaren, Alter und Gewicht der Tiere herauszuarbeiten, da die Gewichtswerte der untersuchten Tiere am Tötungstag jeweils eine grosse Streubreite aufwiesen.

Eine eindeutige Durchbruchsverzögerung konnte dagegen an einem mit PMTC behandelten Stamm (vgl. Abb. 6 linke Kolonne unter M_2 am 19. Tage) beobachtet werden. Der Gewichtsmittelwert dieser Tiere (3,4 g) lag zu diesem Zeitpunkt deutlich unter den Gewichtsmittelwerten der übrigen Haupt- und Blindversuchsstämme (7,2 - 7,5 g; vgl. dazu auch Tab. 2). Bei diesem Stamm war bei den Jungtieren von den Molaren weder M_1 noch M_2 durchgebrochen (siehe Abb. 6).

Ein relativ vorzeitiges Durchbrechen von M_3 konnte am 25. Tage bei 3 untersuchten Tieren des Stammes, welcher nur über die Muttermilch mit PMTC behandelt wurde, beobachtet werden (vgl. dazu Abb. 6 linke Kolonne unter M_3 am 25. Tag). Zu diesem Zeitpunkt lagen die Gewichtsmittelwerte dieses Stammes (11,3 g) bereits deutlich über denjenigen der Haupt- und Blind-Versuchsstämme (10,0 - 10,2g; vgl. dazu Tab. 2 Kolonne R_1 - R_3 am 25. Tag und Abb. 3).

IV. UV-Fluoreszenz-mikroskopische Ergebnisse

1. Tetracyclinablagerung in den einzelnen Zahn- und Knochen-Hartgeweben

PMTC-Ablagerungen konnte ich an den wachsenden Molaren im Dentin, im unreifen Schmelz und im Zement, am wachsenden Alveolarknochen (sowohl in den Inter-radikulärsepten, als auch in den Interdentalsepten) UV-fluoreszenz-mikroskopisch nachweisen.

Keine PMTC-Markierungen konnte ich im reifen, ausmineralisierten Schmelz, sowie im Periodontalligament beobachten.

Die Tetracyclinablagerungen in den wachsenden Molaren und dem dazugehörigen Alveolarknochen ergaben im Sagittalschnitt folgende, unterschiedlich gut abgrenzbare Markierungsbilder: (vgl. dazu Abb.)

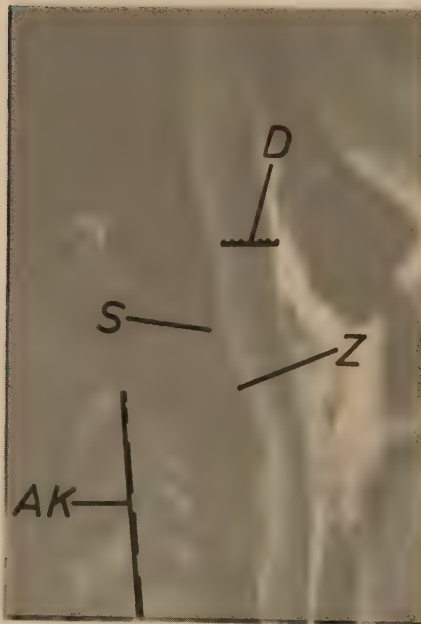


Abb. 7: Sagittalschnitt eines ersten Molaren und Interdentalseptums im UK (Ausschnitt) PMTC-Markierungen (Reverin/Hoechst) im Molaren: Dentin (D: 7 Streifen), Schmelz (S), Zement (Z) und im Alveolarknochen: Interdentalseptum (IDK:) 5 Bänder) 7 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i. p./kg Kö.gew. im Abstand von je 48 Std. UV-Abs.-Filter.

Im wachsenden Dentin liessen sich PMTC-Ablagerungen in Form hell-gelber, gut abgrenzbarer Zuwachs-Streifen relativ konstanter Breitenausdehnung nachweisen.

Im unreifen Schmelz konnte ich PMTC-Ablagerungen als weisslich-gelbe, matt-diffuse Markierungen nachweisen.

PMTC-Ablagerungen im Zement konnte ich als gut erkennbaren, gelben Grenzstreifen zwischen Dentin und Periodontalligament wahrnehmen.

In den Interradikulär- und Interdentalsepten des wachsenden Alveolarknochens konnte ich PMTC-Ablagerungen als Zuwachs-Streifen und -Bänder unterschiedlich gut abgrenzen.

Eine genauere Deutung von Wachstumsvorgängen ist mit PMTC-Markierungen sowohl im Dentin der Molaren, als auch in den Interdental- und Interradikulärsepten des dazugehörigen Alveolarknochens möglich.

Bei mehrmaligen PMTC-Injektionen können Zuwachsraten nach Messung der Fluoreszenzlinien-, -streifen- oder -bänder-Abstände und deren zeitlicher Zuordnung zu den jeweiligen Injektionsdaten errechnet werden.

Zuwachslinien erscheinen im Dentin der Molaren in Form gut abgrenzbarer Fluoreszenz-Streifen. Injektionen gleicher PMTC-Mengen, in konstanten Zeitabständen verabreicht, ergeben in allen Molaren (M_1 , M_2 und M_3) äquivalente Markierungen mit ähnlicher Breitenausdehnung und stetig abfallender Fluoreszenz-Intensität.

Da es sich bei der Dentinbildung im Gegensatz zum Alveolarknochenwachstum um ein relativ einfacheres Wachstumsgeschehen handelt, kann eine einzelne Zuwachslinie stets eindeutig und ohne Schwierigkeit zeitlich der jeweiligen Injektion zugeordnet werden (siehe Abb. 7).

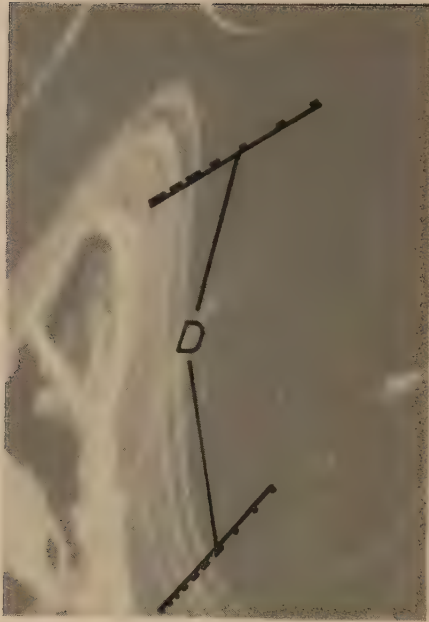


Abb. 8: Sagittalschnitt eines ersten Molaren im Oberkiefer (Ausschnitt)

PMTC-Markierungen (Reverin/Hoechst) im Dentin (D: 10 Streifen)

3 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Abstand von 72 Std.
am Muttertier

7 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Abstand von 48 Std.
am Jungtier. UV-Abs.-Filter.

Im Gegensatz zur Dentinbildung stellt das Wachstum des Alveolarknochens zur Zeit des Zahndurchbruchs ein komplexeres Wachstumsgeschehen dar.

Einmal unterliegt das eigentliche Alveolarknochenwachstum dem allgemeinen Grössenwachstum des Kieferknochens, zudem findet in den Interradikulär- und Interdentalsepten während und nach dem Zahndurchbruch Wachstums-Aktivität in disto-okklusaler Richtung statt, welche sowohl mit dem Durchbruch der Molaren, wie mit dem zu diesem Zeitpunkt noch nicht vollständig abgeschlossenen Wurzelwachstum in engem Zusammenhang steht (Gaunt^{12a} (1967)).

Andererseits findet auch bei der Maus eine physiologische Mesialwanderung der Molaren statt (Gaunt¹² (1964)). Bei diesem komplizierten Wachstumsgeschehen finden neben Knochenanbau-, gleichzeitig auch Knochenabbau- und Knochenumbau-Prozesse statt.

Zuwachslinien erscheinen im Interradikulär- und Interdentalknochen in Form unterschiedlich gut abgrenzbarer Fluoreszenz-Streifen und -Bänder. Injektionen gleicher PMTC-Mengen in konstanten Zeitabständen verabreicht, ergeben unterschiedliche Markierungen verschiedener Breitenausdehnung und Fluoreszenz-Intensität in unterschiedlichen Abständen (siehe Abb. 9).

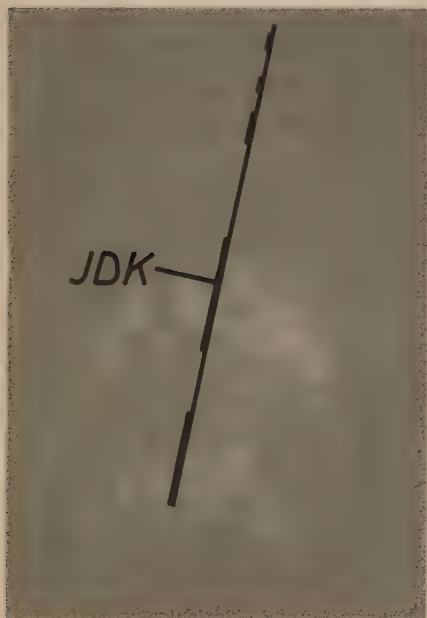


Abb. 9: Sagittalschnitt eines Interradikulär-Septums eines ersten Molaren im Unterkiefer (Ausschnitt).

PMTC-Markierungen (Reverin/Hoechst) im Interradikulärknochen (IRK: 7 Bänder (Streifen))
7 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Abstand von je 48 Std. am Jungtier.

UV-Abs.-Filter.

PMTC-Fluoreszenz im Schmelz unterscheidet sich mikroskopisch im UV-Durchlicht mit Blaufilterkombination hinsichtlich des PMTC-Markierungsmusters, sowie hinsichtlich der Farbe deutlich von derjenigen im Dentin, im Zement und im Alveolarknochen.

Während im Dentin und im Alveolarknochen die PMTC-Fluoreszenzstreifen und -bänder leicht von nicht oder geringer markierten Bezirken abgegrenzt werden können, gehen dagegen im Schmelz die mit PMTC unterschiedlich dicht markierten Bezirke fließend ineinander über und erscheinen in weisslich-gelber Farbe matt-diffuser Tönung (siehe Abb. 10).

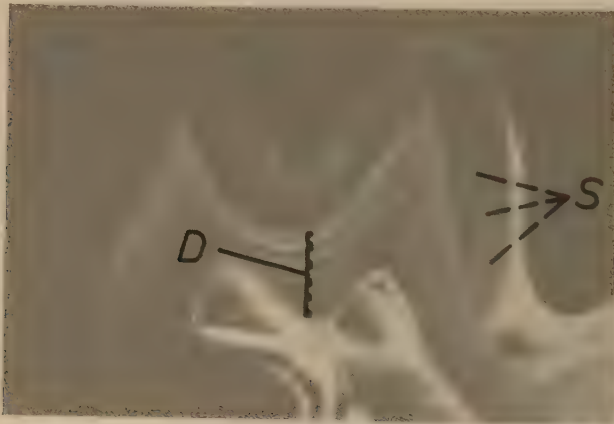


Abb. 10: Sagittalschnitt eines dritten Molaren im Unterkiefer (Ausschnitt) PMTC-Markierungen (Reverin/Hoechst) im Schmelz (S: distaler Kronenteil) und im Dentin (D: 6 Streifen)
6 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Abstand von je 48 Std. UV-Abs.-Filter.

Deutliche PMTC-Schmelzfluoreszenz fand sich bei 26-29 Tage alten Tieren nur an M_3 regelmässig vor. Verschiedene Schmelzbezirke der Molarenkronen waren an spezifischen Stellen in charakteristischer Weise unterschiedlich dicht markiert. PMTC-Fluoreszenz konnte im distal-apikalen Teil des Schmelzes von M_3 häufig, im okklusalen Teil etwas seltener, dagegen fast nie im mesio-apikalen Teil nachgewiesen werden.

Gegenüber den Befunden an M_3 konnte ich an M_1 und M_2 zuweilen nur am direkt an der Schmelzzementgrenze gelegenen Kronenteil eine minimale Rest-PMTC-Fluoreszenz im Schmelz nachweisen (siehe Abb. 7).

Noch seltener war PMTC-Schmelz-Fluoreszenz im okklusalen Kronenteil von M_1 und M_2 nachweisbar. Diese war hierbei stets in der Nähe einer Schmelzfissur lokalisiert (siehe Abb. 11).

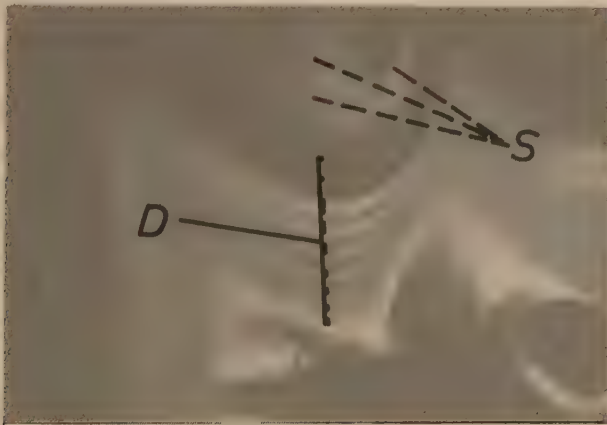


Abb. 11: Sagittalschnitt eines ersten Molaren im Oberkiefer (Ausschnitt)
PMTC-Markierungen (Reverin/Hoechst) im Schmelz (S: okkusal) und im
Dentin (D: 9 Streifen)

2 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Abstand von 72 Std.
am Muttertier. 7 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im
Abstand von 48 Std. am Jungtier. UV-Abs.-Filter.

Zwischen der Entwicklung und der Struktur der Molaren, des Periodontalligamentes und des Alveolarknochens der Maus, wie des Menschen bestehen grundsätzliche Ähnlichkeiten.

Die Wurzeln reifer Molaren der Maus gleichen sowohl in ihrer Anordnung, wie im histologischen Aufbau menschlichen Molaren. Ein deutlicher Unterschied besteht aber bei der Zementbildung.

Zum Zeitpunkt, an welchem der Zahn bereits seit einem oder zwei Tagen in die Mundhöhle durchgebrochen ist, erscheint an keiner Stelle sichtbares azelluläres Zement, obwohl sich bindegewebige Fasern des Zahnsäckchens senkrecht auf dem Dentin anordnen. Zu diesem Zeitpunkt hat die Wurzel ihre volle Länge bereits erreicht. Cohn¹⁴ (1957).

Schmelzfreie Zonen, ein weiteres von menschlichen Zähnen abweichendes, typisches Kennzeichen an Mäusemolaren, führt vom Zeitpunkt, wo diese die funktionelle Okklusion erreicht haben, zu einer relativ raschen Abnutzung an deren Kronenoberflächen. Um diesen vorwiegend okklusalen Schmelzverlust auszugleichen, wird am apikalen Wurzelende stufenweise zelluläres Zement gebildet. Am ausgewachsenen Molaren ist die Bildung von zellulärem Zement so ausgeprägt, dass an jeder Wurzelspitze eine deutliche Hyperzementose festgestellt werden kann (siehe Abb. 12a u. b). Das apikale Drittel der reifen, ausgewachsenen Wurzel wird durch zelluläres, die beiden übrigen Drittel durch azelluläres Zement ausgefüllt. Die Wurzeln aller ausgewachsenen Molaren zeigen deshalb nicht spitzauslaufende Wurzeln, sondern sind an ihren apikalen Enden deutlich kolbenförmig verdickt.

Meine Beobachtungen am Jungtier beschränkten sich auf das azelluläre Zement, welches ich an M_1 und M_2 als dünnen gelb-fluoreszierenden Streifen von der Schmelz-Zementgrenze bis ins apikale Drittel der Zahnwurzeln nachweisen konnte. Eine Verwechslung mit der an Grenzflächen auftretenden Sekundärfluoreszenz konnte mit Hilfe einer speziellen Filter-Kombination ausgeschlossen werden (Blau-Absorptionsfilter). Diese sichert den Tetracyclin-Nachweis mittels Farbunterschied (TC-Fluoreszenz=gelb, Sek.-Fluoreszenz=weiss). An Stellen, wo PMTC-Dentin-Fluoreszenzstreifen auf das Zement auftreffen, tritt die PMTC-Zement-Fluores-

zenz durch den optischen Effekt einer durch eine Gerade gekreuzten Parallelschar in charakteristischer Weise besonders deutlich hervor (siehe Abb. 7).

Im apikalen Drittel der Wurzel fehlte beim Jungtier PMTC-Zementfluoreszenz.

Anders waren die Verhältnisse am adulten Tier. An Sagittalschnitten durch die Molarenreihe und den dazugehörigen Alveolarknochen dieser Tiere, konnte ich die grösste PMTC-Zement-Fluoreszenz am apikalen Ende der Molarenwurzeln nachweisen. Im übrigen Wurzelabschnitt gegen die Schmelzzementgrenze hin lag bedeutend schwächere PMTC-Zementfluoreszenz vor.

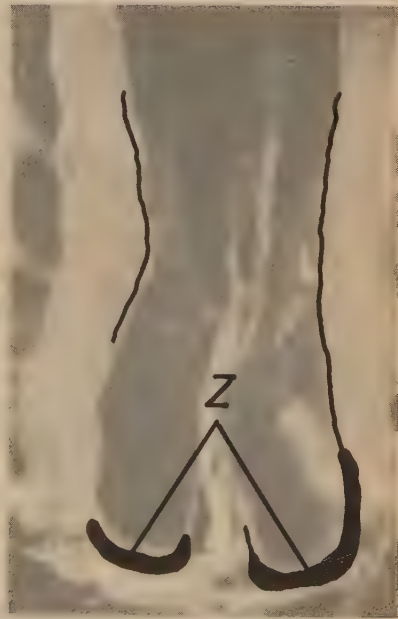


Abb. 12: a) und b) Sagittalschnitt eines ersten unteren Molaren (Ausschnitt)
PMTC-Markierungen (Reverin/Hoechst) im Zement (Z: apikal)
6 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Abstand von je 48 Std.
am adulten Tier. a) im Durchlicht. b) UV-Abs.-Filter.

2. Dentinwachstum

Dickenmessungen im Dentin der Molaren des Ober- und Unterkiefers wurden sowohl im Durchlicht, als auch im UV-Licht mit Hilfe eines Messokulars an den Sagittalschnitten vorgenommen. Die Messungen erfolgten an Stellen, wo im Durchlicht ein möglichst gerader Verlauf der Dentinkanälchen vom Odontoblastensaum zur Schmelzdentingrenze hin vorlag. Jeder Dickenmessung im UV-Licht ging stets eine Paralleleinstellung der Messokularstrecke zu einer Dentinkanälchenschar voraus. Diesem Vorgehen war nach anfänglichen Messungen in verschiedenen Dentinbezirken (z. B. an der Schmelz-Dentin-Grenze) am Ende jedoch nur okklusal ein relativer Erfolg beschieden (siehe Abb. 13a u. b und 14 a u. b).

Ein Dentindickenwachstumsvergleich innerhalb der gesamten Molarenreihe (M_1 , M_2 und M_3) setzt zudem Messungen an möglichst homologen Dentinbezirken der entsprechenden Molaren voraus. Okklusale Messungen im Dentin wurden deshalb immer unterhalb einer Fissur vorgenommen. Dieser Bezirk weist auf Sagittalschnitten in der Regel keine schmelzfreie Zonen auf, ferner besteht an dieser Stelle weitgehend morphologische Ähnlichkeit innerhalb der drei Molaren.

Diese Einschränkungen bei vergleichenden Messungen verringerte die Anzahl dazu verwendbarer Präparate beträchtlich. Bei einem Dentindickenwachstumsvergleich innerhalb einer Molarenreihe drängte sich deshalb auch bald die Vernachlässigung von M_3 bei den Messungen auf. Infolge seiner geringen absoluten Grösse, sowie des zusätzlichen, relativen Entwicklungsrückstandes auf M_1 und M_2 zum Zeitpunkt der Tötung (26.-29. Tag) ist eine homologe Schnittebene durch die gesamte Molarenreihe (M_1 , M_2 und M_3) nur an ganz wenigen Präparaten gewährleistet und wegen der unterschiedlichen Neigung der Molaren nach lingual im UK und nach buccal im OK zudem fraglich (vgl. dazu Gaunt (19)).

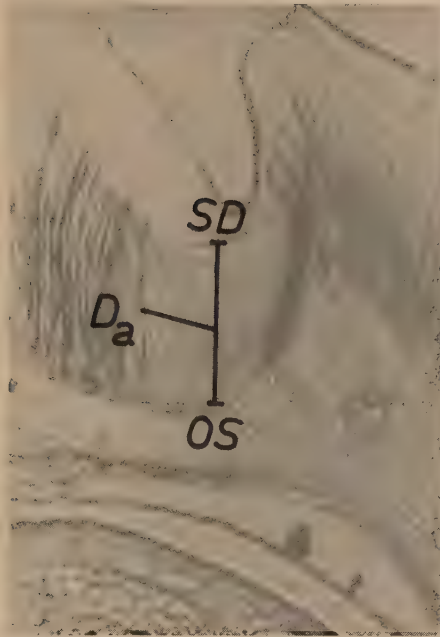


Abb. 13a: Dentin-Dickenmessung
(im Durchlicht)

Sagittalschnitt durch den ersten
Molaren im Oberkiefer (Aus-
schnitt)

homologer Bezirk (okklusal) zu
Abb.: 14a.

D_a = absolute Dentindicke (okklu-
sal) am 28. Lebenstag. (Abstand:
Odontoblastensaum, OS - Schmelz-
Dentin-Grenze, SD)

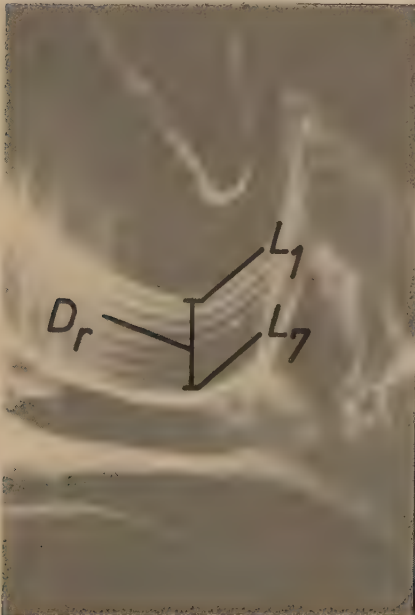


Abb. 13b: Dentin-Dickenmessung
(mit UV-Abs.-Filter)

Sagittalschnitt durch den ersten
Molaren im Oberkiefer (Ausschnitt)

PMTC-Markierungen (Reverin/
Hoechst) im Dentin (7 Streifen
 L_1 - L_7)

7 mal 40 mg PMTC (Reverin/
Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Ab-
stand von 48 Std. am Jungtier.
homologer Bezirk (okklusal) zu
Abb.: 14b.

D_r (L_1 - L_7) = Dentinzuwachs in
12 Tagen (zwischen 13. und 26.
Lebenstag)

Abstand: 1.-7. Fluoreszenzstrei-
fen (L_1 - L_7)

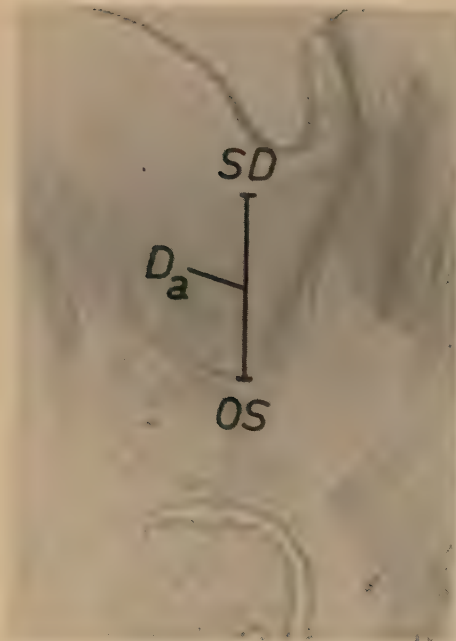


Abb. 14a: Dentin-Dickenmessung
(im Durchlicht)

Sagittalschnitt durch den zweiten
Molaren im Oberkiefer (Ausschnitt)
homologer Bezirk (okklusal) zu
Abb.: 13a.

D_a = absolute Dentindicke (ok-
lusal) am 28. Lebenstag. (Abstand:
Odontoblastensaum, OS - Schmelz-
Dentingrenze, SD)

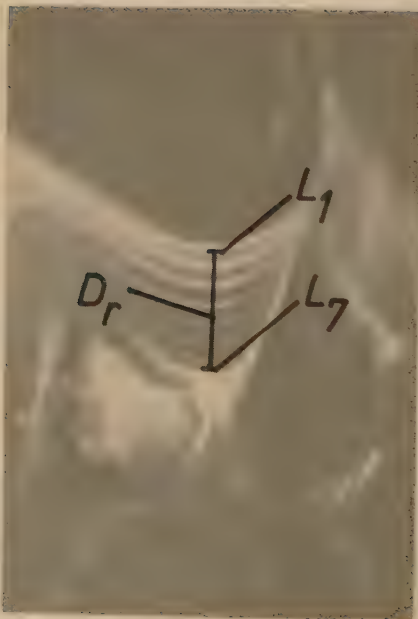


Abb. 14b: Dentin-Dickenmessung
(mit UV-Abs.-Filter)

Sagittalschnitt durch den zweiten
Molaren im Oberkiefer (Ausschnitt)
PMTC-Markierungen (Reverin/
Hoechst) im Dentin (7 Streifen
 L_1 - L_7)
7 mal 40 mg PMTC (Reverin/
Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Ab-
stand von 48 Std. am Jungtier,
homologer Bezirk (okklusal) zu
Abb.: 13b.

$D_z (L_1-L_7)$ = Dentinzuwachs in
12 Tagen (zwischen 13. und 26.
Lebenstag)

Abstand: 1.-7. Fluoreszenzstrei-
fen ($L_1 - L_7$)

Die in Tab. 4 aufgeführten Messwerte sind Mittelwerte aus Messungen an 10 resp. 5 Sagittalschnitten durch die Molaren M_1 und M_2 des Ober- resp. Unterkiefers, welche aus einem umfangreichen Schnittmaterial ausgesucht wurden und die oben angeführten Bedingungen für okklusale Dickenmessungen weitgehend erfüllten.

Okklusales Dentindickenwachstum in μm :

	Dentindicke am 28. - 29. Lebenstag :	Dentindickenzuwachs (okkusal) in 12 Tagen zwischen 13. und 26. Lebenstag.
OK	M_1 : 296	155
	M_2 : 343	224
UK	M_1 : 300	145
	M_2 : 302	218

Tab. 4:

In Tab. 4 ist die im Durchlicht gemessene absolute Dentindicke am 28.-29. Lebenstag, wie die Dentinzuwachsrates in 12 Tagen aufgeführt.

Zur Bestimmung des Dentindickenzuwachses wurde mit einem Messokkular der Abstand zwischen zwei PMTC-Dentinfluoreszenzstreifen, welche den jeweiligen PMTC-Injektionen am 12. und 25. resp. 13. und 26. Lebenstag entsprachen gemessen und gemäss der optischen Einstellung des Mikroskopes anhand einer genormten Mess-Skala in μm umgerechnet.

Die Mittelwerte dieser Dentindickenmessungen an M_1 und M_2 ergaben für M_2 gegenüber M_1 in der Zeit zwischen 13. und 26. Lebenstag sowohl im Ober- wie im Unterkiefer höhere Zuwachswerte. Diese Messergebnisse entsprechen Beobachtungen von Gaunt¹¹ (1963), welcher mit einer speziellen Methode exakte Zuwachskurven über das Wachstum der Mäusemolaren errechnete.

In der Zeit zwischen dem 13. und 26. Lebenstag bewegt sich der Dentindickenzuwachs innerhalb von 12 Tagen okklusal um Werte, welche für M_1 bei $150\text{ }\mu\text{m}$ und für M_2 bei $221\text{ }\mu\text{m}$ liegen.

3. Alveolarknochenwachstum

Eine rechnerische Darstellung von Wachstumsvorgängen im Alveolarknochen zur Zeit des Zahndurchbruches von M_1 und M_2 erwies sich im Gegensatz zu den vergleichenden Dickenmessungen im Dentin als noch schwieriger.

Abgesehen von der morphologischen Variabilität homologer Alveolarknochenareale (Interradikulär- und Interdentalsepten entsprechender Molaren), war es oft nicht möglich, markierte Alveolarknochenbezirke den jeweiligen Injektionen zuzuordnen.

Dagegen erwies sich eine Beschreibung der Wachstumsvorgänge im Alveolarknochen während des Zahndurchbruches von M_1 und M_2 anhand einiger typischer Bilder als zweckmässig. Aufschlussreich waren dabei Markierungsbilder der Interradikulärsepten von M_1 und der Interdentalsepten zwischen den Molaren M_1 und M_2 im Unter- wie im Oberkiefer.

Typisch für alle an einigen wenigen dazu geeigneten Präparaten vorgenommenen Messungen erwiesen sich die in Abb. 15 dargestellten und aus einunddemselben Präparat gewonnenen Messwerte. Hierbei war es möglich, das für den Zahndurchbruch entscheidende, in okklusaler Richtung verlaufende Vertikalwachstum, sowohl im Dentin des ersten unteren Molaren, als auch im Interradikulärseptum des dazugehörigen Alveolarknochens zu messen. Parallel dazu konnte zum Vergleich am PMTC-markierten Kieferknochen die Zuwachsraten der Haver'schen Lamellensysteme zur Zeit des Zahndurchbruches von M_1 und M_2 gemessen werden.

Aufschlussreich bei allen durchgeführten Messungen war, dass die Zuwachsraten im Alveolarknochen für M_1 unmittelbar vor, während und auch nach dessen Durchbruch in die Mundhöhle die höchsten Werte erreichten. Vom 25. Tage an, zum Zeitpunkt, wo sich nach Cohn¹⁴ (1957) M_1 in funktioneller Okklusion befindet, gleichen sich die Interradikulärknochen-Zuwachswerte von M_1 deutlich den Zu-

wachswerten des Unterkieferknochens an (allg. Grössenwachstum) und liegen zu dieser Zeit bereits unter dem relativ konstanten Zuwachswert den Dentins (siehe Abb. 15).

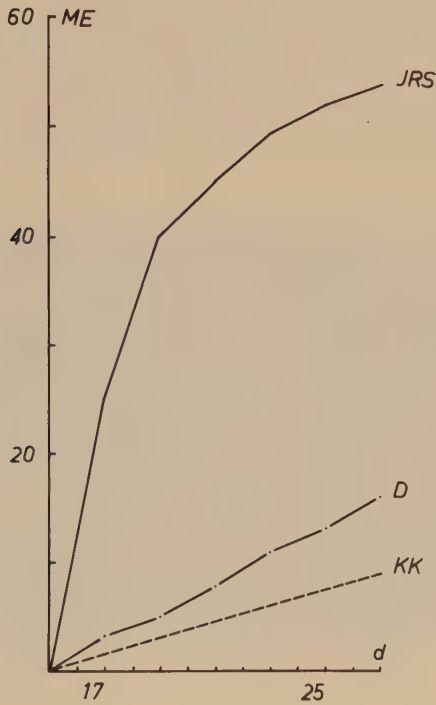


Abb. 15: ad Alveolarknochenwachstum.

Graphische Darstellung von Knochenwachstumsvorgängen im Unterkiefer der Maus (BLH) anhand eines geeigneten, repräsentativen Präparates.

PMTC-Markierungen (Reverin/Hoechst) im Kieferknochen (Interradikulärknochen und Haver'scher Lamellenknochen)

7 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Abstand von 72 Std. am Jungtier.

Ordinate: Zuwachswerte in Messeinheiten der verwendeten Mess-Skala (1ME = 15 μ m)

Abszisse: Alter der Tiere in Tagen (d)

IRK: Knochenwachstum im Interradikulärseptum (vertikal)

D: Dentindickenwachstum (vertikal)

KK: Dickenwachstum von Haver'schem Lamellenknochen (Mittelwert) (radiär)

Auffallend bei den Untersuchungen am Alveolarknochen waren die PMTC-Markierungen am Interdentalseptum zwischen M_1 und M_2 . Während in diesem distalen Teil stets mehrere PMTC-Markierungen parallel zu den im Dentin des benachbarten Molaren (M_2) verlaufenden PMTC-Fluoreszenzstreifen in Richtung Apex verfolgt werden konnten, enden diese im mesialen Teil auf höherem Niveau im Periodontalligament. Eine zu den Dentinmarkierungen in M_1 parallele Streifenanordnung fehlt im mesialen Teil des Interdentalseptums (siehe Abb. 16).

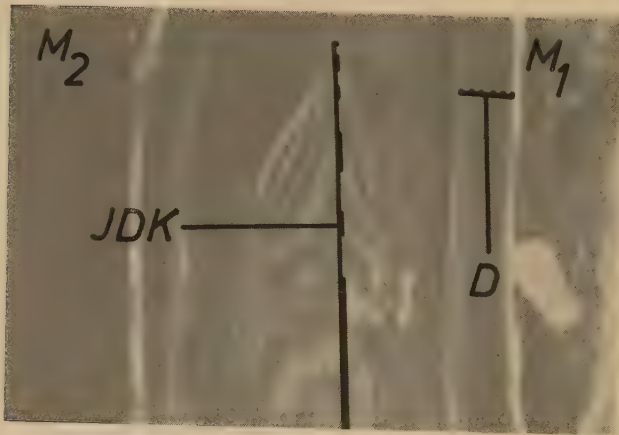


Abb. 16: Sagittalschnitt eines Interdental-Septums im Unterkiefer (Ausschnitt)
PMTC-Markierungen (Reverin/Hoechst) im Interdentalknochen (IDK: 6 Bänder (Streifen)), im Dentin (D: 6 Streifen).

6 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i.p./kg Kö.gew. im Abstand von je 48 Std. am Jungtier. UV-Abs.-Filter.

M_1 : erster Molar (distal)

M_2 : zweiter Molar (mesial)

Daraus geht hervor, dass zur Zeit des Zahndurchbruchs von M_1 und M_2 im distalen Teil des Interdentalseptums vermehrt Knochenanbauvorgänge stattfinden, wogegen im mesialen Teil die Knochenabbau- und Knochenumbauvorgänge überwiegen.

Ziehen wir in Gedanken eine Verbindungslinie durch die auf einer vertikalen Achse nach okklusal gelegenen PMTC-Streifenmaxima der Interdentalsepten, so erhalten wir dabei stets eine Aufteilung in einen grösseren, stärker markierten distalen und in einen kleineren, schwächer markierten mesialen Alveolarknochenabschnitt.

V. Fluoreszenz-Intensitäts-Messungen mit dem Mikroskop-Photometer (MPV) der Firma ERNST LEITZ

1. Fluoreszenz-Intensitäts-Abfall (Dentin und Alveolarknochen)

Beim Photographieren, wie bei Messungen an unentkalkten Zahnknochenschliffpräparaten, konnte bereits nach kurzen Expositionszeiten (einige Minuten) eine von Auge deutlich wahrnehmbare Fluoreszenz- bzw. intensitätsabnahme beobachtet werden.

Die zu Beginn einer Exposition, helle und reingelbe Farbe der Tetracyclinmarkierungen im Dentin und Alveolarknochen der jeweiligen Präparate, verblasste nach längerer Bestrahlung im UV-Durchlicht, so dass die Markierungen hernach von matter, weisslich-gelber Farbe waren und fluoreszenzmikroskopisch nicht mehr wahrgenommen werden konnten oder sich zumindest von Eigenfluoreszenz im Zahn- und Knochengewebe nicht mehr mit Sicherheit unterscheiden liessen.

Von uns erstmals durchgeführte Messungen mit Hilfe des Mikroskop-Photometers MPV der Firma ERNST LEITZ in der Ausführung für fluorometrische Messungen (objektiv registrierend) (siehe Abb. 1) am Molaren-Dentin, wie am benachbarten Alveolarknochen, erbrachten den in Abb. 17 dargestellten PMTC-Fluoreszenzabfall. Die Geräteempfindlichkeit blieb während der Messungen konstant (stabilisierte Lichtquelle), wobei lediglich die Initialfluoreszenz ($I = 100\%$) auf eine einheitliche Ebene des Schreibgerätes (Servogor, Laufgeschwindigkeit 600mm/min) einjustiert wurde. Bei diesen Messungen diente als Messblende eine fixierte Irisblende.

Es zeigt sich, dass PMTC-Fluoreszenz im Dentin und im Knochen exponentiell abfällt. Nach einem relativ grossen Initialabfall, nähern sich die Fluoreszenzintensitätswerte einem relativ konstanten Endwert, welcher bis zu 55 % unter der Anfangsintensität ($I_0 = 100\%$) liegen kann.

PMTC-Fluoreszenzabnahme im Dentin ist, verglichen mit derjenigen im Alveolarknochen, deutlich verlangsamt.

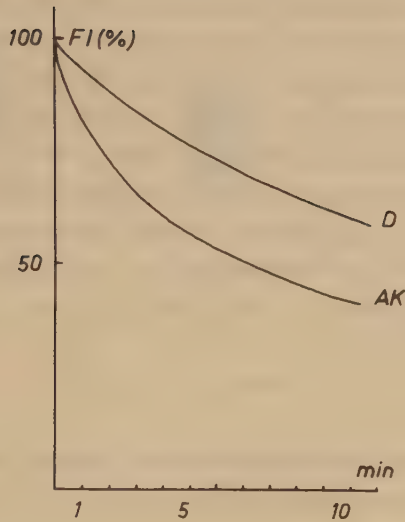


Abb. 17: Fluoreszenz-Intensitätsabnahme im Dentin (D) und Alveolarknochen (AK) der Maus (BLH) von PMTC-Markierungen (Reverin/Hoechst) bei Exposition der Zahn-Knochenschnittpräparate im UV-Durchlicht.

Ordinate: FI (%) = Fluoreszenz-Intensität in %

Abszisse: Expositionszeit der Zahn-Knochenschnittpräparate im UV-Durchlicht in Minuten (min)

Die graphische Darstellung wurde auf Grund von Messungen an einem geeigneten, repräsentativen Zahn-Knochenschnittpräparat aufgezeichnet.

2. Vergleichende Fluoreszenzintensitätsmessungen

Bei gleichbleibender technischer Anordnung am MPV-Gerät ermöglichte ein zusätzlich angebrachter, motorischer Tischantrieb eine Objektverschiebung in der x-Richtung. Damit kann beim Messvorgang eine sogenannte Scanninglinie durch das Objekt geführt werden. Durch Umstellen des motorischen Tischantriebes kann diese in beiden Richtungen abgefahren werden ($-x$ 0 $+x$). Der Objektvorschub ist konstant und gegeben durch das Übersetzungsverhältnis des jeweils benutzten Getriebes. Die Möglichkeit unterschiedlich übersetzte Getriebe auszutauschen, ermöglicht vor dem Messvorgang eine zweckmässige Auswahl und Anpassung der Laufgeschwindigkeit an die jeweils untersuchten Präparate.

Zu diesen Messungen wurde eine Spaltblende verwendet.

Beim Auflegen der Präparate auf den Objektstisch erfolgte daher zuerst die Einstellung des Fluoreszenzstreifenverlaufes parallel zur Längsseite der Spaltblenden-Öffnung.

Dem Markierungsmuster im Dentin (mehrere Streifen) und im Zement (ein Streifen) zufolge, wurde die Spaltbreite der Blende der ungefähren Dicke der Fluoreszenzstreifen angeglichen. Dabei betrug die Spaltöffnung im Mittel $8 - 16 \mu\text{m}$ ($\pm 1 \mu\text{m}$).

Bei entsprechenden Messungen im Schmelz und Alveolarknochen wurde diese Spaltöffnungsgrösse beibehalten.

Die Wahl einer Laufgeschwindigkeit von $3 \mu\text{m/s}$ ermöglichte, vergleichbare Fluoreszenzintensitätsmessungen über definierten Arealen PMTC-markierter Gewebsabschnitte vorzunehmen.

Diese dem eigentlichen Messvorgang vorgeschaltete Objektseinstellung wird in einer halbschematischen Zeichnung in Abb. 18 wiedergegeben.

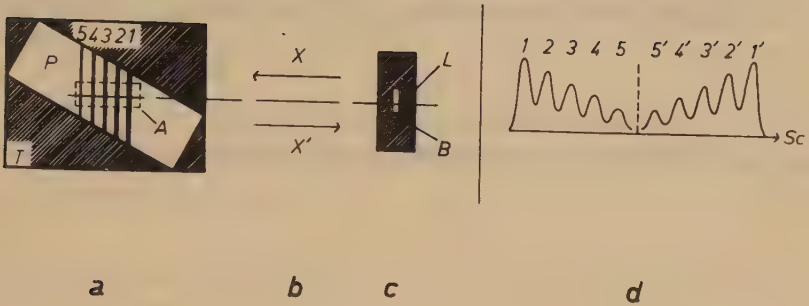
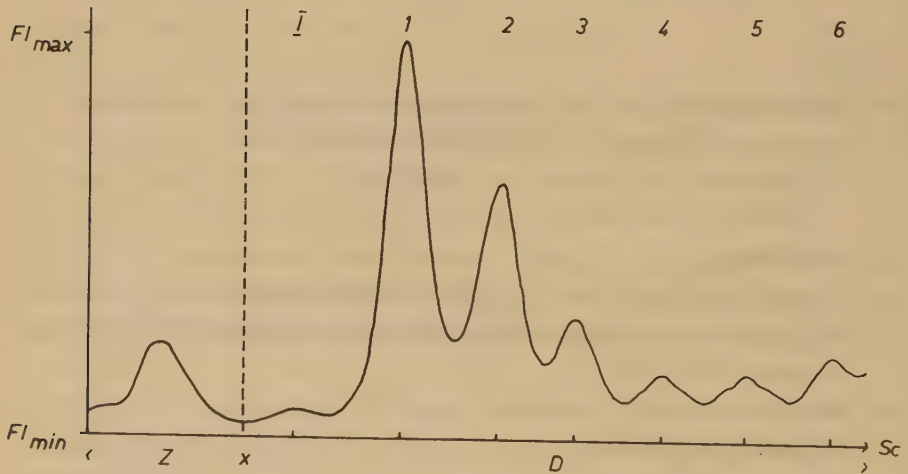


Abb. 18:

- a) Paralleleinstellung von fünf Fluoreszenzstreifen eines Zahn-Knochenschnittpräparates zur Längsseite der Spaltblendenöffnung (L in c))
 P = Objektträger mit Zahnknochenschnittpräparat (verstellbar).
 T = Objektisch. Mit Hilfe des motorischen Tischantriebes in der x-Richtung verschiebbar.
- b) Horizontale Verschiebungsachse des Objektisches. Objektverschiebung in beiden Richtungen der x-Achse möglich. (Die Pfeile zeigen die beiden Bewegungsrichtungen X und X'an.)
- c) Spaltblendenöffnung bei senkrechter Ausrichtung zu den zu photometrierenden Fluoreszenzmarkierungen.
 L = Spaltblenden-Längsseite
 B = Spaltblenden-Breitseite
 Über der Spaltblende ist das Fluoreszenz-Intensitäts-Messgerät angebracht.
- d) Aufzeichnung von zwei Intensitätsmesskurven über fünf Fluoreszenz-Streifen verschiedener Fluoreszenzintensität aus zwei Messungen über dem Areal A in a) in beiden x-Richtungen der horizontalen Verschiebungsachse, bei konstanter Geschwindigkeit des Tischantriebes.

Diese PMTC-Fluoreszenz-Intensitätsmessungen erfolgten im gleichen Empfindlichkeitsbereich des MPV-Gerätes bei unverändertem UV-Durchlicht, wobei eine einheitliche Ebene des Schreibgerätes (Servogor, Laufgeschwindigkeit 120 und 600mm/min) auf die Maximalfluoreszenz-Intensität ($FI_{\max}$) des jeweiligen Präparates abgestimmt wurde.

Abb. 19: Fluoreszenz-Intensitäts-Messung im Wurzelbereich eines ersten unteren Molaren.



Fluoreszenz-Intensitäts-Messkurve über PMTC-Markierungen im Dentin (D : I und 1-6) und im Zement (Z)

Ordinate: FI = Fluoreszenz-Intensität (Einstellung des Schreibgerätes auf

$FI_{\max}$ = Maximal-Fluoreszenz-Intensität; $FI_{\min} = FI_0$)

Abszisse: Verlauf der Scanning-Linie (Sc). Diese wurde vom Periodontalligament her über das Zement (Z) und das Dentin (D) in Richtung Odontoblastensaum geführt. Näheres siehe Text.

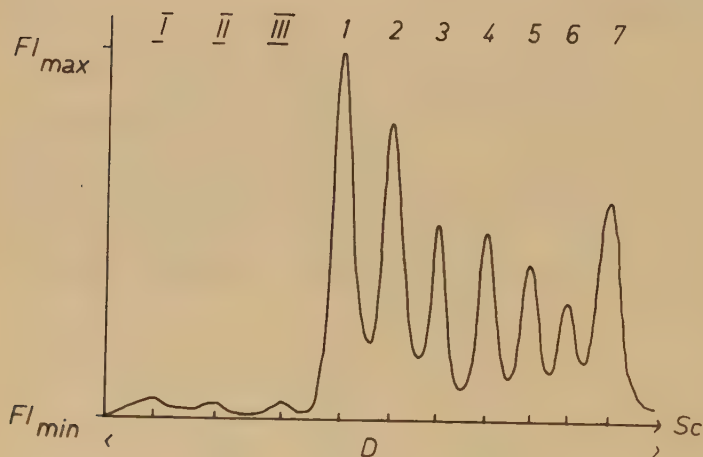
Von den 7 in Abb. 19 aufgezeichneten Fluoreszenz-Intensitätsmaxima im Dentin (D : I und 1-6) kann I auf eine i.p. verabreichte PMTC-Injektion am Muttertier (am 12. Lebenstag der Jungtiere) zurückgeführt werden, 1-6 auf 6 in 48-stündigen Intervallen i.p. verabreichte PMTC-Injektionen am Jungtier (vom 15.-25. Lebenstag).

Das über dem Zement gemessene Intensitätsmaximum stellt einen additiven Effekt dar. Dieser Messwert sagt jedoch nichts Näheres über die Ablagerungsfolge der einzelnen PMTC-Injektionen aus.

Die Herstellung der Injektionslösungen von 40 mg PMTC/kg Kö.gew. in 0,3 ml aqua dest. sind für die 3 ersten Injektionen am Jungtier auf das Körpergewicht der Tiere am 1. Injektionstag berechnet. Weitere Injektionslösungen wurden sowohl mengen-, als auch volumenmässig in leicht von der Grundkonzentration abweichendem Verhältnis hergestellt. Von den Intensitätsmaxima über Fluoreszenzstreifen im Dentin sind deshalb jeweils nur die drei ersten (1-3) unmittelbar untereinander vergleichbar.

Ähnlich sind die Fluoreszenz-Intensitäts-Messergebnisse über PMTC-Markierungen im coronalen Dentin (siehe Abb. 20).

Abb. 20: Fluoreszenz-Intensitäts-Messung im Kronenbereich eines ersten oberen Molaren.



Fluoreszenz-Intensitäts-Messkurve über PMTC-Markierungen im Dentin (D: I-III und 1-7)

Ordinate: FI = Fluoreszenz-Intensität (nach Einstellung des Schreibgerätes auf

$FI_{\max}$ = Maximal-Fluoreszenz-Intensität; $FI_{\min} = FI_0$)

Abszisse: Verlauf der Scanning-Linie (Sc). Diese wurde von der Schmelz-Dentingrenze her über das Dentin (D) in Richtung Odontoblastensaum geführt.

Von den 9 in Abb. 20 aufgezeichneten Fluoreszenz-Intensitätsmaxima im Dentin (I-III und 1-7) können I-III auf 3 in 72-stündigen Intervallen i.p. verabreichte Injektionen am Muttertier (vom 6.-12. Lebenstag der Jungtiere) und 1-7 auf 7 in 48-stündigen Intervallen i.p. am Jungtier verabreichte PMTC-Injektionen (vom

15.-27. Lebenstag) zurückgeführt werden.

Abb. 21 zeigt Fluoreszenz-Intensitäts-Messergebnisse über PMTC-Markierungen im cervikalen Schmelz und Dentin eines dritten unteren Molaren.

Abb. 21: Fluoreszenz-Intensitäts-Messung im cervikalen Bereich eines unteren dritten Molaren.

F_i

FI_i

Fluoreszenz-Intensitäts-Messkurve über PMTC-Markierungen im Schmelz (S) und im Dentin (D)

Ordinate: FI = Fluoreszenz-Intensität (nach Einstellung des Schreibgerätes auf

$FI_{\max}$ = Maximal-Fluoreszenz-Intensität; $FI_{\min} = FI_0$)

Abszisse: Verlauf der Scanning-Linie (Sc). Diese wurde von der Schmelzoberfläche her über den Schmelz (S) und das Dentin (D) in Richtung Odontoblastensaum geführt.

Von den 6 in Abb. 21 aufgezeichneten Intensitätsmaxima im Dentin (D: 1-6) können 1-6 auf 6 in 48-stündigen Intervallen i.p. verabreichte PMTC-Injektionen am Jungtier (vom 16.-26. Lebenstag) zurückgeführt werden.

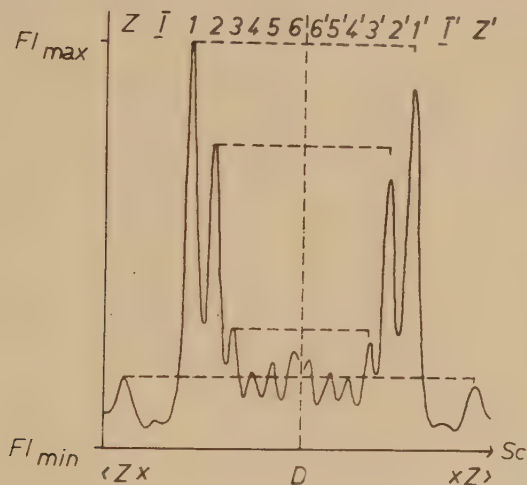
Die Fluoreszenz-Intensitätsmesswerte über dem Schmelz (S) stellen einen additiven Effekt dar. Sie weisen 2 verschieden hohe Maxima auf. Von diesen liegt das höhere (S_{m1}) über zu einem späteren Zeitpunkt gebildetem Schmelz, und das niedrigere (S_{m2}) über zu einem früheren Zeitpunkt gebildetem Schmelz.

Abb. 22 und 23 zeigen je zwei Messkurven von PMTC-Fluoreszenz-Intensitätsmessungen über den in Abb. 19 und 21 dargestellten und beschriebenen Präparaten. Der Messvorgang ist der gleiche. Einzig die Einstellung der Maximal-Intensität (FI_{max}), sowie die Wahl einer langsameren Geschwindigkeit des Schreibgerätes wurden dabei verändert. Das "Abfahren" der Scanning-Linie in beiden Richtungen der x-Achse ergab die axial-symmetrischen Kurvenbilder über demselben Messbereich.

Der Kurvenverlauf unter a) in Abb. 22 ist demjenigen in Abb. 19 sehr ähnlich. Bei dieser zweifachen Abbildung zeigt sich das unter dem Abschnitt PMTC-Fluoreszenz-Intensitätsabfall beschriebene Phänomen der PMTC-Fluoreszenz-Intensitätsabnahme im UV-Durchlicht. Die benötigte Zeitspanne zum Abfahren der Scanning-Linie in beiden Richtungen der x-Achse, zeigt über der zu einem späteren Zeitpunkt vorgenommenen 2. Messung in einer Richtung der x-Achse (b) ein deutliches Absinken der Intensitätsmaxima im Dentin (D : I' und 1-6') und etwas weniger im Zement (Z'). Dieser innerhalb eines in zwei Etappen erfolgenden Messvorganges beobachtete Intensitätsunterschied bei symmetrischem Vergleich, liess sich jedoch nur bei der erstmaligen Exposition eines PMTC-markierten Präparates darstellen. Die Messungen zu Abb. 22 erfolgten hierbei vor den Messungen zu Abb. 19, jedoch über der gleichen Scanning-Linie.

Abb. 22 zeigt die in Abb. 19 dargestellte Fluoreszenz-Intensitätsmessung in zweifacher Abbildung (a) und b))

Abb. 22: PMTC-Fluoreszenz-Intensitätsmessung bei "Abfahren" der Scanning-Linie (Sc) in beiden Richtungen der x-Achse (+x 0 -x) des in Abb. 19 dargestellten Präparates.

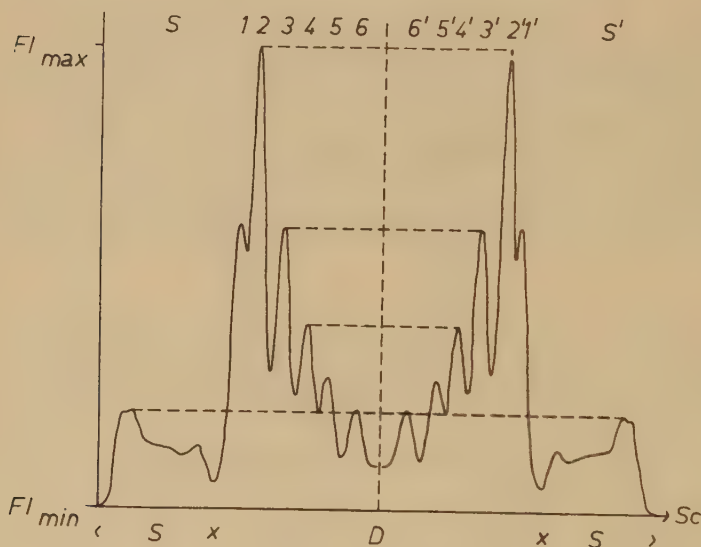


a) Messkurve 1 nach Abfahren der Scanning-Linie (Sc) an erstmalig exponiertem PMTC-markierten Präparat. Messvorgang analog wie bei Abb. 19.

b) Messkurve 2 nach Abfahren der Scanning-Linie (Sc) in entgegengesetzter x-Richtung zu einem späteren Zeitpunkt. Messvorgang gleich wie bei a).

Abb. 23 zeigt die in Abb. 21 dargestellten PMTC-Fluoreszenz-Intensitätsmessung in zwei Messkurven (a und b)

Abb. 23: PMTC-Fluoreszenz-Intensitätsmessung bei "Abfahren" der Scanning-Linie (Sc) in beiden Richtungen der x-Achse ($+x$ 0 $-x$) des in Abb. 21 dargestellten Präparates.



a) Messkurve 1 nach Abfahren der Scanning-Linie (Sc) an einem bereits expo-
nierten PMTC-markierten Präparat. Messvorgang analog wie bei Abb. 21.

b) Messkurve 2 nach Abfahren der Scanning-Linie (Sc) in entgegengesetzter
x-Richtung zu einem späteren Zeitpunkt. Messvorgang gleich wie bei a).

Der Kurvenverlauf unter a) in Abb. 23 ist demjenigen in Abb. 21 sehr ähnlich. Doch bei dieser zweifachen Messkurve kommt das Phänomen des PMTC-Fluoreszenz-Intensitäts-Abfalls bei UV-Durchlicht nicht zum Ausdruck. Die entsprechenden Intensitätsmaxima beider Messkurven sind praktisch identisch. Die Messungen erfolgten an einem bereits vorher längere Zeit im UV-Durchlicht exponierten Präparat. Die Messungen zu Abb. 23 erfolgten hierbei nach den Messungen zu Abb. 21, jedoch über derselben Scanning-Linie.

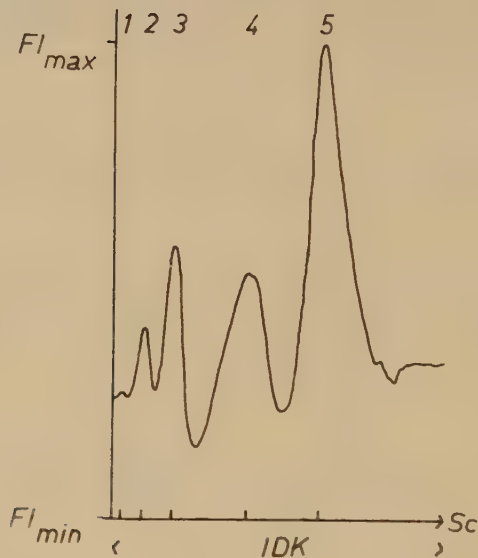
Fluoreszenz-Intensitätsmessungen über PMTC-markiertem Alveolarknochen (interdental und interradiikulär) sind in Abb. 24 und 25 dargestellt.

Die Scanning-Linie wurde dabei stets parallel zur Vertikalachse der Interdental- und Interradiikulärsepten durch PMTC-markierte Alveolarknochenbezirke geführt. Damit war es möglich, die PMTC-Fluoreszenz-Streifen und -Bänder im Knochen annähernd unter einem rechten Winkel "abzufahren".

Die in Abb. 24 aufgezeichneten 5 Intensitätsmaxima über einem Interdentalknochenausschnitt (IDK: 1-6) können auf 5 in 48-stündigen Intervallen, i.p. am Jungtier verabreichte PMTC-Injektionen vom 17.-25. Lebenstag zurückgeführt werden.

Die in Abb. 25 aufgezeichneten 6 Intensitätsmaxima über einem Interradiikulär-Knochenausschnitt, können auf 6 in 48-stündigen Intervallen i.p. am Jungtier verabreichte PMTC-Injektionen vom 15.-25. Lebenstag zurückgeführt werden.

Abb. 24: Fluoreszenz-Intensitätsmessungen im Alveolarknochen (Interdental-septum)



Fluoreszenz-Intensitäts-Messkurve über PMTC-Markierungen im Interdental-knochen (IDK: 1-5).

Ordinate: FI = Fluoreszenz-Intensität (nach Einstellung des Schreibgerätes auf

FI_{max} = Maximal-Fluoreszenz-Intensität; $FI_{min} = FI_0$)

Abszisse: Verlauf der Scanning-Linie (Sc). Diese wurde vom Periodontalligament her in vertikal-apikaler Richtung durch das Interdentalseptum geführt.

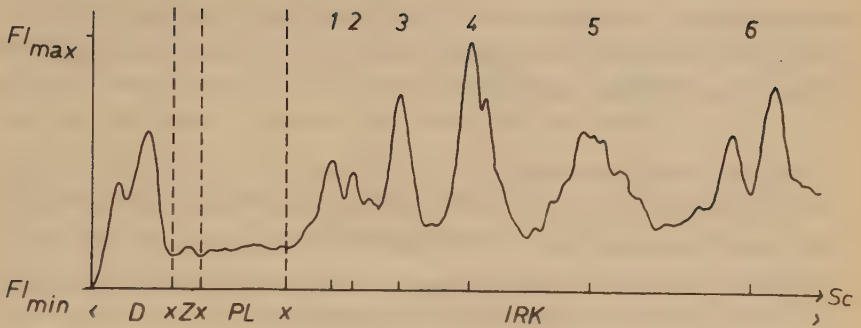


Abb. 25: Fluoreszenz-Intensitätsmessung im Alveolarknochen (Interradikulär-septum)

Fluoreszenz-Intensitätsmesskurve über PMTC-Markierungen im Dentin (D), im Zement (Z), im Periodontalligament (PL) und im Interradikulärknochen (IRK: 1-6)

Ordinate: FI = Fluoreszenz-Intensität (nach Einstellung des Schreibgerätes auf FI_{max} = Maximal-Fluoreszenz-Intensität; $FI_{min} = FI_0$)

Abszisse: Verlauf der Scanning-Linie (Sc). Diese wurde im suprabifurkären Dentin beginnend, durch das PMTC-markierte Dentin, das Zement, das Periodontalligament und den Interradikulärknochen geführt.

Die mit dem MPV-Gerät durchgeführten Messungen bestätigten und erweiterten meine bereits mit dem UV-Fluoreszenz-Mikroskop erzielten Ergebnisse.

Eine eindeutige Zuordnung einzelner Fluoreszenz-Intensitätsmaxima zu den jeweiligen PMTC-Injektionen ist mit diesem Verfahren nur an PMTC-markiertem Dentin und Alveolarknochen möglich.

Fluoreszenz-Intensitätsmessungen über PMTC-markiertem Schmelz und Zement geben bestimmt zum Teil auch additive Effekte wieder. Dabei lässt sich mit diesem Messverfahren vorläufig nicht feststellen, ob ein über Schmelz und Zement gemessener Fluoreszenz-Intensitätsmesswert einer einmaligen Injektion entspricht oder eine Summation mehrerer PMTC-Gaben darstellt.

Über die PMTC-Fluoreszenz-Intensitäts-Messergebnisse lässt sich zusammenfassend Folgendes aussagen:

Die höchsten Fluoreszenz-Intensitätswerte konnte ich über PMTC-markiertem Alveolarknochen und Dentin messen (breite Bänder, hohe Maxima) (vgl. Abb. 25).

Bedeutend tiefere Werte erhielt ich bei Messungen über PMTC-markiertem Zement (siehe Abb. 25) und Schmelz (siehe Abb. 21).

Auch über dem Periodontalligament lagen die Fluoreszenz-Intensitäts-Messwerte deutlich über dem Nullwert (siehe Abb. 25).

Die niedrigsten Intensitätswerte ($I=0$) lagen im unmarkierten Dentin (vgl. Abb. 19 und 20).

Die PMTC-Fluoreszenz-Intensitäts-Maxima verhalten sich im Dentin, bei gleichbleibender PMTC-Applikation umgekehrt-proportional zum Gewichtszuwachs. Dieses Verhalten trifft im Prinzip auch für die PMTC-Markierungen im Alveolarknochen zu.

Die PMTC-Ablagerung im Dentin erfolgt im Gegensatz zum Alveolarknochen dem Injektionsmodus entsprechend in relativ konstanten Abständen.

D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die Ablagerung von Reverin (= Pyrrolidino-methyl-tetracyclin = PMTC) erfolgt im wachsenden Dentin und Alveolarknochen der Maus in Form typischer Zuwachsschichten. Diese können UV-fluoreszenzmikroskopisch leicht der Anzahl und dem zeitlichen Abstand der jeweiligen Injektionen zugeordnet werden.

Bei Reverin-Markierungen in "unreifem" Schmelz wie in jungem Zement fehlt dieser typische, schichtweise Ablagerungsmodus.

Trotz gegenteiliger Befunde von Owen⁵⁴ (1963) kann heute mit Sicherheit angenommen werden, dass ausmineralisierter Schmelz kein Tetracyclin mehr aufnimmt (Römer⁷, 1966, Boyde⁶², 1964, Harcourt et al.⁶³⁻⁶⁸, 1962). Im "unreifen" Schmelz dagegen lässt sich UV-mikroskopisch Tetracyclin-Fluoreszenz nachweisen.

Eigene Beobachtungen über Tetracyclin-Markierungen im Schmelz bei M_3 stimmte in den Befunden mit dieser Annahme überein. Die Schmelzbildung und -reifung dieses Molaren fiel bei den Hauptversuchstiergruppen noch in die Zeit der Reverin-Injektionen. Auffällig war, dass sich Reverin-Fluoreszenz hier in der Regel im distalen Teil der Krone nachweisen liess (seltener auch noch okklusal), während sie im mesial gelegenen Schmelz fehlte. Diese zu einem bestimmten Entwicklungs-Termin ungleichmässige, aber spezifisch-lokalisierte Verteilung von Reverin im vorhandenen Schmelz von M_3 lässt zumindest für diesen Molaren ein in mesio-distaler Richtung verlaufendes Mineralisationsgeschehen erkennen, das im distalen Schmelzteil der Krone zuletzt endet.

Reverin-Fluoreszenz im Schmelz unterscheidet sich gegenüber den gut abgrenzbaren, hellgelben Fluoreszenz-Zuwachsstreifen und -bänder im Dentin und Alveolarknochen durch geringere Intensität, wie auch hinsichtlich der Farbtönung. Über grössere, noch nicht fertig mineralisierte Schmelzbezirke hinweg diffus verteilt, erscheint diese im UV-Licht in matter, weisslich-gelber Farbe.

Bei der Darstellung von Wachstumsvorgängen mittels Reverinmarkierungen im Dentin und Alveolarknochen der Jungtiere konnte an geeigneten Präparaten Wachstumsgeschwindigkeiten ermittelt werden.

Im Dentin okklusal gemessene Dickenzuwachswerte ergaben für M_1 und M_2 unterschiedliche Zuwachsraten. Für M_1 betrug der Dickenzuwachs in der Zeit zwischen dem 13. und 26. Lebenstag im Mittel 150 μm , für M_2 221 μm . Diese Werte stimmen mit den Untersuchungsergebnissen von Gaunt¹¹ (1963) überein, der mit einer speziell entwickelten Methode die höchste Dentinzuwachsgeschwindigkeit für M_2 und die niedrigste für M_3 ermittelte.

Im Alveolarknochen konnte anhand der Reverin-Markierungen sowohl der Vertikalzuwachs in den Interradikulärsepten als auch spezifische Knochenumbauvorgänge in den Interdentalsepten während der Zeit des Molarendurchbruchs von M_1 und M_2 näher untersucht werden.

Die Bildung von Alveolarknochen ist unmittelbar vor und bei Erscheinen der Molaren in der Mundhöhle am grössten und kann in vertikal-okklusaler Richtung im Interradikulärseptum des ersten Molaren im Unterkiefer Zuwachswerte von 375 $\mu\text{m}/\text{Tag}$ erreichen. Von diesem Zeitpunkt nimmt die Wachstumsgeschwindigkeit der entsprechenden Alveolarknochenbezirke in vertikal-okklusaler Richtung stetig ab, um beim Eintritt in die funktionelle Okklusion der Molaren Zuwachswerte von 12,5 $\mu\text{m}/\text{Tag}$ zu erreichen.

Daneben war auffällig, dass in distal gelegenen Bezirken der Interdentalsepten vermehrter Knochenanbau nachgewiesen werden konnte, während dieser in entsprechend mesial gelegenen Knochen fehlt. Die Möglichkeit einer Diastemabildung zwischen den Inzisiven und den ersten Molaren ist denkbar. Dieser Annahme steht eine ebenso plausible Erklärung gegenüber, welche sich auf die grundlegenden Untersuchungen von Gaunt¹² (1964) "The development of the teeth and jaws of the albino mouse" bezieht. Darin zeigt der Autor, dass sich die Molaren im UK während der Entwicklung gleichsam entlang einer gekrümmten Ebene nach dem vorderen Kieferende hin bewegen; ihre Kronen sind dabei leicht nach mesial geneigt. Zur Zeit des Durchbruchs in die Mundhöhle erfährt jeder Zahn eine Drehung, so dass er nach dem

Durchbruch und in funktioneller Okklusion, mit dem Längsdurchmesser senkrecht zur Okklusionsebene steht. Eine Führung dieser Drehung kommt im Weiteren durch Berührung der mesialen mit den distalen Kontaktflächen der Molaren zustande.

Zur Zeit meiner Reverin-Injektionen am Jungtier scheint die Wurzelbildung von M_2 im Unterkiefer (siehe Abb. 16 mesiale Wurzel) noch nicht abgeschlossen zu sein. Auch hat dieser Molar seine endgültige Stellung innerhalb der Molarenreihe (senkrecht zur Okklusions-Ebene) noch nicht erreicht und erfährt zu diesem Zeitpunkt eine Drehbewegung um eine Achse, die in linguo-vestibulärer Richtung durch das Zentrum der Kronenbasis verläuft.

Die Wurzelbildung von M_1 dagegen ist bereits weiter fortgeschritten (evtl. gar schon abgeschlossen). M_1 steht zu dieser Zeit schon beinahe senkrecht im Kiefer. Sein Periodontalligament befindet sich damit gleichsam in einem gewissen Gleichgewichtszustand. Ein durch erhöhte Zugkräfte von Seiten der Periodontal-Fasern induzierter Knochenanbau ist hier deshalb kaum zu erwarten; auch fehlen in diesem Abschnitt des Interdentalseptums entsprechende Tetracyclinmarkierungen.

Dagegen können im distalen Teil des Interdentalseptums Anbaustreifen als Antwort auf die Zugkräfte des Periodontalligaments der mesialen Wurzel von M_2 gedeutet werden; dieser Molar hat zu diesem Zeitpunkt seine endgültige, vertikale Stellung bekanntlich noch nicht erreicht. Ein Dünnerwerden der Tetracyclin-Streifen gegen die mesiale Wurzelspitze von M_2 hin, lässt auf geringere Zugkräfte von Seiten des Periodontalligamentes in dieser Region schliessen. Diese Beobachtung unterstützt auch die Annahme, dass die Bildung der mesialen Wurzel von M_2 und damit die Bildung des Periodontalligamentes im apikalen Bereich zu diesem Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen sind (12a).

Vergleichende Untersuchungen am adulten Tier zeigten Reverin-Fluoreszenz im Zement und im Alveolarknochen. Diese unterscheidet sich von der Reverin-Fluoreszenz beim Jungtier durch geringere Intensität, wie hinsichtlich bevorzugter Ablagerungsbezirke.

Die Molaren adulter Mäuse weisen verdickte Wurzelenden auf. Die dabei beobach-

tete Kolbenbildung, scheint als kompensatorischer, physiologischer Umbauvorgang in Form einer Hyperzementose, die okklusale Abnutzung der Molarenkronen auszugleichen (Cohn¹⁷, 1957).

Die am Jungtier beobachteten, typischen Zuwachsstreifen und -bänder fehlten im Alveolarknochen adulter Tiere. Die Reverin-Fluoreszenz war hier in den Interradikulärsepten, in der Nähe von Bifurkationsstellen der Molarenwurzeln, am stärksten ausgeprägt. Eine an solchen bevorzugten Stellen im Alveolarknochen beobachtete, schichtweise Ablagerung von Reverin, liess einen vermehrten, appositionellen Knochenanbau erkennen.



Abb. 26: Sagittalschnitt eines Interradikulärseptums eines ersten Molaren im Unterkiefer (Ausschnitt) PMTC-Markierung im Interradikulärknochen (Reverin/Hoechst) 6 mal 40 mg PMTC (Reverin/Hoechst) i. p. /kg. Kö. gew. im Abstand von je 48 Std. am adulten Tier. UV-Abs.-Filter.

Dieser dürfte zusammen mit der Zementanlagerung an den Wurzelspitzen zur Aufrechterhaltung bzw. zur Sicherung der funktionellen Okklusion der Molaren beitragen (siehe Abb. 26).

Mit Hilfe des elektronisch registrierenden MPV-Gerätes (LEITZ) war es erstmals möglich, den Fluoreszenzabfall in PMTC-markiertem Zahnhart- und Kno-

chengewebe kontinuierlich darzustellen.

Bekanntlich können sich, durch Tetracycline hervorgerufene, klinisch erkennbare Zahn-Pigmentierungen bei längerer Exposition im Tageslicht verändern (Wallman et al.⁵⁷, 1962). Klärende Hinweise, inwieweit es sich bei diesem photochemischen Prozess um Auswirkungen des UV-Strahlenanteils im Spektrum von Sonnenlicht handelt, fehlen bisher. Der von uns gemessene, grosse und in sehr kurzer Zeit erfolgende Fluoreszenz-Abfall im UV-Durchlicht an PMTC-markiertem Knochen und Dentin, lässt einen ursächlichen Zusammenhang zwischen UV-Bestrahlung (UV-Strahlenanteil des Tageslichtes) und TC-Pigmentsveränderungen (Verfärbungen) durchaus offen.

Mit Hilfe des Scanning-Verfahrens erlaubten Fluoreszenz-Intensitäts-Messungen Aussagen über die verschiedenen Markierungsdichten innerhalb eines Zahn-Knochen-Schnittpräparates. Im wachsenden Dentin der Mäusemolaren konnte nach mehrmaliger, in der Dosierung gleichbleibender PMTC-Applikation, eine direkte Abhängigkeit zwischen der Tetracyclinaufnahme im mineralisierenden Dentin und dem Gewichtszuwachs der Jungtiere aufgezeigt werden; dabei kam auch ein relativ konstantes Dentindickenwachstum zum Ausdruck.

Im Alveolarknochen mit dem Scanning-Verfahren gewonnene Messergebnisse wiesen auf einen komplexen Wachstumsverlauf hin. Unterschiedliche Abstände und Intensitätsmaxima der Reverinmarkierungen, welche bei direkten Messungen (Dickenzwachstum) wichtige Aufschlüsse über das Wachstumsgeschehen (Wachstumsgeschwindigkeit, Richtung des Wachstumsverlaufes) zur Zeit des Molarendurchbruchs ergaben, traten hierbei besonders deutlich in Erscheinung.

Die Intensitäts-Messwerte über Fluoreszenz-Streifen und -Bänder in wachsendem Alveolarknochen liessen bei mehrmaliger, in der Dosierung gleichbleibender Reverin-Applikation im Grossen und Ganzen die Annahme einer direkten Abhängigkeit zwischen Tetracyclin-Aufnahme in mineralisierendem Alveolarknochen und dem Gewichtszuwachs der Jungtiere zu. Einem relativ kontinuierlichen Fluoreszenz-Intensitäts-Abfall, wie er bei Messungen über Reverin-markiertem Dentin typisch in

Erscheinung tritt, stehen bei Messungen an Reverin-markiertem Knochen nach dem Scanning-Verfahren im Einzelnen oft gegenteilige Messwerte gegenüber. Ein dem Gewichtszuwachs der Jungtiere umgekehrt proportionaler Intensitätsabfall über den jeweiligen Zuwachslinien und -Bändern der Interradikulär- und Interdentalseptem trifft deshalb nur bedingt zu.

Inwieweit Intensitäts-Messwerte über dem Paradontium die deutlich über dem Nullwert lagen, auf PMTC-Markierungen zurückzuführen sind, braucht weiterer Klärung.

Verschiedene Tetracalinpräparate bewirken im wachsenden Dentin Markierungen unterschiedlicher Dichte. Mit geeigneter Filterkombination können daher bei photometrischen Messungen im UV-Licht spezifische Fluoreszenz-Intensitäten für die jeweils verwendeten Präparate nachgewiesen werden.

Diffuse, breite Markierungen unterschiedlicher Fluoreszenz-Intensität bewirken Demethyl-chlor-Tetracyclin und Tetracyclin; beide Präparate erscheinen als Markierungsmittel zur Darstellung von Wachstumsvorgängen im Dentin und Alveolar-knochen ungeeignet.

Schärfer abgrenzbare, distinkte Markierungen ergeben im Dentin dagegen Oxy-Tetracyclin, Chlor-Tetracyclin und Pyrrolidino-methyl-Tetracyclin; letztgenanntes weist eine um ca. 30 % höhere Fluoreszenz-Intensität als Oxy- und Chlor-Tetracyclin auf (Römer⁷, 1966).

Pyrrolidino-methyl-Tetracyclin (PMTC) = Reverin zeichnet sich zudem von allen oben aufgeführten Tetracyclinen durch eine bedeutend bessere Wasserlöslichkeit und gute lokale Verträglichkeit aus.

Auch die abgestufte Dosierung eines der jeweils verwendeten Tetracyclinpräparate führt im Dentin zu Markierungen unterschiedlicher Breite und Fluoreszenz-Intensität. Bei Verwendung von Tetracyclin in therapeutischen Dosen, erhielt Römer⁷ (1966) gut abgrenzbare Fluoreszenz-Streifen im Dentin, bei höheren dagegen mas-siv-diffuse, helle, breite Markierungen.

Bei der Applikation sehr niedriger Tetracyclindosen konnte Frerk⁶ (1964) deutlich abgrenzbare, jedoch sehr schwache Fluoreszenzstreifen im Dentin nachweisen.

Die aus diesen Befunden gefolgerte Annahme, dass eine zur Darstellung von Wachstumsvorgängen im Dentin geeignete Tetracyclindosis innerhalb der therapeutischen Breite liegt, bestätigen fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an einer Anzahl klinisch behandelter Fälle aus dem Patientengut von Prof. Keil (siehe Abb. 27).

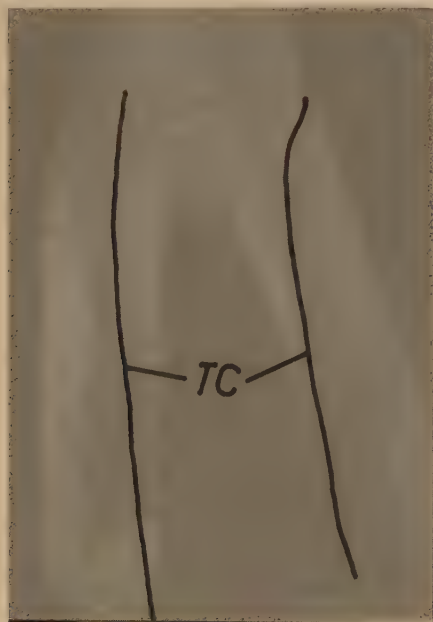


Abb. 27: Oberer Praemolar
(P. Cl, ⁰₊, 21 Jahre) Wurzeldentin,
(parallel und senkrecht im Bild),
Längsschliff. Tetracyclin-Streifen
der im 10. Lebensjahr gebildet
wurde. Blauabsorptionsfilter.

Die für meine Versuche festgesetzte Dosierung, welche in der Regel 40 mg Reverin/kg Kö.gew. betrug wurde in einem Vorversuch an adulten Tieren auf ihre Verträglichkeit hin geprüft. Die UV-fluoreszenzmikroskopischen Ergebnisse im Reverin-markierten Dentin zeigten helle, gut abgrenzbare Fluoreszenzstreifen und bestätigten die Dosierung als günstig.

Auf Grund charakteristischer Reverin-Markierungen in den Interdental- und Inter-radikulärsepten, konnten Wachstumsvorgänge im Alveolarknochen während des Durchbruches der Molaren näher verfolgt werden. Eine Hemmung des Alveolar-knochenwachstums war nicht nachweisbar, Sowohl der Gewichtszuwachs, als auch das Durchbrechen der Molaren (M_1 und M_2) in die Mundhöhle entsprachen der Norm und stimmten mit den Untersuchungsergebnissen der Blindversuchsreihen überein.

Auch Reverin, welches allein über die Muttermilch zum Einlagerungsort im Dentin gelangte, liess sich UV-fluoreszenzmikroskopisch nachweisen. Eine vielfache Verdünnung der am Muttertier injizierten Reverin-Dosis war hinreichend für eine gut wahrnehmbare Tetracyclinfluoreszenz. Der chemische Nachweis von Tetracyclin in der Milch ist jedoch schon länger bekannt (Dowling et al.⁵⁶⁻⁵⁸, 1955).

Bei diesem über die Muttermilch mit Reverin behandelten Stamm war weiterhin auffallend, dass die Gewichtswerte der Jungtiere vom 22. Lebenstag stets über den Gewichtswerten der Haupt- und Blindversuchsreihen lag. Dieser auch in der Human-Medizin beobachtete, wachstumsstimulierende Effekt der Tetracycline, vor allem bei frühgeborenen, unterentwickelten und unzureichend ernährten Kindern, trat bei dieser Versuchsreihe jedoch nicht in signifikanter Weise hervor.

Filippi und Mela⁵⁹ (1957) konnten mit Tetracyclin Skelettmissbildungen vor allem in Form von Verkürzungen, insbesondere auch im Kieferbereich hervorrufen. Dazu wurde trächtigen Mäusen, vom 15. - 20. Tage nach dem Befruchtungstermin, täglich 5 mg Tetracyn SF (Pfizer) ohne Vitamin B-Zusätze verabreicht.

Bevelander⁶⁰ (1962) konnte an Ratten ähnliche Skelettdefekte hervorrufen. Dazu wurde trächtigen Ratten täglich 40-80 mg TC/kg Kö.gew. verabreicht. Dieser Autor konnte ferner nachweisen, dass dieser TC-Effekt zwischen dem 10. und 12. Tag nach dem Befruchtungstermin liegen muss.

In der Human-Medizin kommen solch hohe Dosen praktisch nie zur Verwendung. Kienitz^{61 u. 61a}, (1966) konnte dagegen bei einem Kind eine deutliche Gelbfärbung der Milchzähne durch Reverin nachweisen, welche auf eine antibiotische

Infektionsbehandlung der Mutter während der letzten beiden Schwangerschaftsmomente zurückzuführen war. In der gleichen Arbeit berichtet der Autor auch über Fälle, bei denen Kindern in den ersten Lebensmonaten Reverin verabreicht wurde. Diese Patienten zeigten zu einem späteren Zeitpunkt deutliche Gelbverfärbungen, sowie Hypoplasien am Milchgebiss.

Eine Farbprüfung der Schneidezähne, der mit Reverin behandelten Tiere, liess mich eine spezifische Gelbtönung (subjektiv) vermuten, welche jedoch nicht objektiviert werden konnte.

Ebensowenig liessen sich bei dieser, innerhalb der therapeutischen Breite liegenden, relativ niedrigen Reverin-Dosierung Mineralisationsstörungen im Schmelz und Dentin mit Hilfe empfindlicher pol-mikroskopischer Methoden (vgl. dazu Keil³, 1966) nachweisen.

Ein Hinweis auf morphologische und entwicklungsgeschichtliche Daten bei der Molarenbildung der Maus im Zusammenhang mit den Reverin-Applikationszeiten scheint bestimmte Befunde verständlicher zu machen: Schmelz- und Dentinbildung von M_1 , M_2 und M_3 sind zur Zeit der PMTC-Applikation an den Jungtieren meiner Haupt- und Blindversuchsgruppen bereits im Gange. Der Beginn fällt für M_1 und M_2 in die Zeit zwischen dem letzten Tage in utero und dem 4. Lebenstag der Jungtiere; für M_3 in die Zeit zwischen dem 10. und 12. Lebenstag (vgl. dazu Cohn¹⁴, 1957). Dabei fällt der Beginn der Dentinbildung ungefähr 24 Stunden vor den Beginn der Schmelzbildung (vgl. dazu Gaunt¹¹, 1963). Die Zahnknospe von M_3 wird zwischen dem 4. und 6. Lebenstag angelegt. In die Versuchszeit fiel der Durchbruch von M_1 und M_2 ; diese beiden Molaren brechen zwischen dem 16. und 17., bzw. zwischen dem 18. und 19. Lebenstag in die Mundhöhle durch.

Die Backenzähne der Maus haben eine niedrige Kronenform (Brachydontie). Ein Dauerwachstum, wie dies für die während des ganzen Lebens kontinuierlich wachsenden Inzisivi vorliegt, existiert für die Molaren nicht (vgl. dazu Keil³, 1966). Deren Schmelz- und Dentinwachstum ist nach Erreichen der endgültigen Kronenform abgeschlossen. Pro Kieferquadrant werden je drei Molaren angelegt. Ein Milchgebiss existiert nicht (Monophyodontie).

Der Durchbruch von M_1 und M_2 erfolgte bei allen Versuchstieren in der Regel zwischen dem 16. und 17. bzw. zwischen dem 18. und 19. Lebenstag und entsprach damit den Angaben von Cohn¹⁴ (1957). Der Durchbruch von M_3 erfolgte vom 26. Lebenstag an und fiel deshalb vor den von Cohn ermittelten Durchbruchstermin. Diese zeitliche Verschiebung dürfte damit zusammenhängen, dass nicht der gleiche Mäusestamm zur Verfügung stand.

M_1 und M_2 brachen in der Regel im Unterkiefer früher als im Oberkiefer durch; M_3 dagegen tauchte zuerst im Oberkiefer auf. Dabei traten die mesialen Höcker aller Molaren vor den distalen Höckern durch die Schleimhaut. Ein abweichendes Verhalten von Haupt- zu Blindversuchsreihen konnte indessen nicht festgestellt werden.

Das relativ späte Erscheinen von M_3 lässt sich so deuten, dass die Alveolarknochenkomponente der Kiefer zu Beginn der Molaren-Entwicklung noch zu klein ist, um die in Entwicklung befindlichen Zähne unterzubringen (vgl. dazu Gaunt¹², 1964).

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Reverin (PMTc) unterscheidet sich von anderen Tetracyclinpräparaten vor allem in phasikalischer Hinsicht: Einmal durch eine gute Verträglichkeit bei der i. p. Applikation im Tierversuch, sowie bei der Darstellung von Wachstumsvorgängen durch exakte Markierungen im Dentin und Alveolarknochen.
2. Eine günstige Dosierung von i. p. verabreichtem Reverin zur Darstellung von Wachstumsvorgängen im Dentin und Alveolarknochen von 12-26 Tage alten Mäusen liegt bei 40 mg/kg Kö-gew. in 48-stündigen Abständen injiziert.
3. Mit obengenanter Dosierung konnten nach mehrmaligen Injektionen (bis zu 7) weder Hypocalzifikationen noch Verfärbungen im Dentin oder Schmelz der untersuchten Molaren festgestellt werden.
4. Bei einem allein über die Muttermilch mit Reverin behandelten Mäusestamm konnten im Vergleich zu den Stämmen der Haupt- und Blindversuchsreihen relativ höhere Gewichtswerte gemessen werden.
5. Anhand von Reverin-Markierungen im okklusalen Dentin der Mäusemolaren konnte ich für M_1 und M_2 unterschiedliche Dentinzuwachsgeschwindigkeiten nachweisen. Für M_1 betrug der Dickenzuwachs innerhalb von 12 Tagen zwischen dem 13. und 26. Lebenstag im Mittel 150 μ m, für M_2 221 μ m.
6. An Reverin-markiertem Kieferknochen konnte die Bildung von Alveolarknochen beobachtet und dessen Wachstum in okkluo-vertikaler Richtung während der Zeit des Molarendurchbruches gemessen werden.
7. Zur Zeit des Alveolarenknochenwachstums konnte im mesial und distal gelegenen Knochengewebe des Interdentalseptums zwischen M_1 und M_2 im Unterkiefer unterschiedliche Knochenumbauvorgänge beobachtet werden. Dabei liess sich eine leichte Drehbewegung der Molaren in der Zeit des Durchbruches in okkluo-vertikaler Richtung nachweisen.

8. Typische Reverin-Markierungen im Schmelz von M_{31} , vor allem in dessen distalem (z. T. auch okklusalen) Kronenteil, machen einen von mesial nach distal verlaufenden Verkalkungsprozess zwingend.
9. An adulten Tiere vorgenommene Reverin-Injektionen zeigten deutliche Markierungen im apikalen Zementteil, sowie an bestimmten Alveolarknochenstellen der Interradikulärsepten. Dieser Zement- und Knochenanbau stellt gleichsam ein physiologisches Kompensationsgeschehen zu den Abrasionserscheinungen im okklusalen Teil der Molaren-Kronenoberflächen dar.
10. Mit Reverin markierte Zahn-Knochenschnittpräparate unterliegen im UV-Licht einem starken Fluoreszenzabfall. Dieser ist zu Beginn der Exposition am grössten (Initial-Abfall) und nähert sich anschliessend, allmählich einem konstanten Endwert (Rest-Abfall). Der Initial-Abfall ist im Knochen grösser als im Dentin und strebt einem niedrigeren Endwert zu.
11. Vergleichende Fluoreszenz-Intensitäts-Messungen mit dem MPV-Gerät der Firma ERNST LEITZ zeigten nach dem Scanning-Verfahren über Markierungen im Dentin und Alveolarknochen ein direktes Abhängigkeitsverhältnis zwischen der Ablagerungsdichte von Reverin und dem jeweiligen Gewicht der Jungtiere.
12. Unterschiede bezüglich des Gewichtszuwachses sowie bezüglich der Durchbruchfolge der Molaren waren sowenig bei den mit Reverin, wie bei den im Blindversuch mit physiologischer NaCl-Lösung behandelten Tieren festzustellen.

SUMMARY

1. Reverin (Pyrrolidino-methyl-tetracycline) differs from other tetracycline-groups in physical consideration. It is compatible with the animal tissues when injected intraperitoneally, to demonstrate growth processes by exact labelling of dentine and alveolar bone.
2. An adequate dosage of 40mg Reverin/ kg bodywt. was given at 48 hours intervals to demonstrate growth processes in the dentine and alveolar bone of 12 - 26 days old mice.
3. With the above mentioned dose of Reverin hypocalcification or discoloration were not observed in the dentine or in enamel of the examined molars.
4. A single strain treated through mother's milk showed relatively higher body weights.
5. Different growth rates of M_1 and M_2 has been demonstrated by the Reverin-marks in the occlusal dentine. Between 13th and 26th day, the daily growth in occlusal dentine of M_1 and M_2 was 12,5 μ m and 18,4 μ m (approx.) respectively.
6. During the eruption of the molars the occluso-vertical bone growth was noted in the Reverin-labelled jawbones which has been measured and demonstrated.
7. During the time of alveolar bone growth it was observed that the mesial and distal part of the interdental septum between M_1 and M_2 in the lower jaw differs in the formation of bone. A slightest rotation of the molars in occluso-vertical direction can also be shown during this time.
8. A typical labelling in the enamel of M_3 specially at it's distal part of the crown (sometimes in the occlusal) suggests a mesio-distal movement of the calcification process.

9. Reverin-injections on adult animals show distinct markings in the apical part of cementum as in some parts of the interradicular sept. This apposition of cementum and bone is a physiological process, which compensates the abrasions in the occlusal part of the crown surface.

10. Reverin-labelled newly prepared tooth-bone-sections when examined in UV-light undergo a distinct decrease of fluorescence. This decrease of fluorescence is more distinguished at the beginning of the exposition of a newly prepared Reverin-labelled tooth-bone-section (initial decrease) and fades out asymptotically to a constant level (rest decrease)

The initial decrease of fluorescence is more distinct in bone than in dentine, but ultimately ends at a lower level.

11. By measuring the degrees of fluorescence-intensity with the MPV-apparatus (ERNST LEITZ) by scanning method it has been showed that in the tooth-bone-sections a direct relationship exists between the density of deposited tetracycline and the bodyweight of young mice.

12. Between the experimental and control groups no differences were observed respecting the daily increase of bodyweight and the sequence of eruption.

LITERATURVERZEICHNIS

1. KEIL, A., FRERK, H., Untersuchungen zur Tetracyclinfärbung wachsender Zähne und Kiefer. -
Wien. Tierärztl. Mtschr. 50, 350-357, 1963
2. KEIL, A., Tetracyclin-Fluoreszenzmikroskopie, insbesondere der Zähne. -
LEITZ-Mitteilungen für Wissenschaft und Technik 3,
83-86, 1965.
3. KEIL, A., Grundzüge der Odontologie, - Berlin 1966 (Tafel IV).
4. KEIL, A., Tetracyclin-Nebenwirkungen auf die Zähne (Xanthodontie). -
in Handb. der zahnärztlichen Praxis, 3. Auflage
Stuttgart: Medica Verlag 1967, 1603/4, 1967.
5. KEIL, A., RÖMER, D., SKOPAKOFF, C., Tetracyclinmarkiertes Zahn- und
Knochenwachstum und mikrophotometrische Fluoreszenzmessung. -
LEITZ-Mitteilungen für Wissenschaft und Technik (im Druck).
6. FRERK, H., Tetracyclin-Fluorochromie-Versuche an wachsenden Zähnen und
an Kieferknochen. -
Med. Diss., Giessen 1964.
7. RÖMER, D., Über den Fluoreszenztest mit Tetracyclinen während des Zahn-
und Alveolarknochenwachstums (Cavia cobaya). -
Med. Diss., Giessen 1966.
8. GAUNT, W.A., The development of the molar pattern of the mouse (Mus
musculus). -
Acta anat. 24, 249-268; 1955.
9. GAUNT, W.A., The development of enamel and dentine on the molars of the
mouse, with an account of the enamel-free areas. -
Acta anat. 28, 111-134, 1956.

10. GAUNT, W.A., The vascular supply in relation to the formation of roots on the cheek teeth of the mouse. -
Acta anat. 43, 116- , 1960.
11. GAUNT, W.A., An analysis off the growth of the cheek teeth of the mouse. -
Acta anat. 54, 220-259, 1963.
12. GAUNT, W.A., The development of the teeth and jaws of the albino mouse. -
Acta anat. 57, 115-151, 1964.
- 12a. GAUNT, W.A., persönliche Mitteilung
13. GAUNT, W.A., A note on the pre- and postnatal location of the molar teeth of the mouse. -
Acta anat. 57, 267-277, 1964.
14. COHN, S.A., Development of the molar teeth in the albino mouse. -
Amer. J. Anat. 101, 295-320, 1957.
15. MILCH, R.A., RALL, D.P., TOBIE, J.E., Bone localization of the tetracyclines. -
J. Nat. Cancer-Inst. 19, 87-92, 1957.
16. MILCH, R.A., RALL, D.P., TOBIE, J.E., Fluorescence of tetracycline antibiotics in bone. -
J. Bone Joint Surg. 40, 897-910, 1958.
17. EGER, W., KÄMMERER, H. und BOTHMANN, G., Experimentelle Beiträge zur Tetracyclinablagerung in den Zähnen. -
DZZ 20, 827-839, 1965.
18. JANSEN, M.T., Eine verbesserte Methode für die Herstellung von Serienschliffen an nichtentkalktem Zahngewebe. -
J. Dent. Res. 29, 401-406, 1950.

19. KÖNIG, K.G., MARTHALER, T.M., MÜHLEMANN, H.R., Methodik der kurzfristig erzeugten Rattenkaries. -
Dtsch. Zahn-, Mund-, Kieferhk. 29, 99-127, 1958.
20. EGER, W., GÖTZ, F., KÄMMERER, H., Herstellung von Dünnschliffen aus Knochen und Weichgewebe nach Markierung mit Tetracyclinen. -
Langenbecks Arch. klin. Chir. 306, 205-214, 1964.
21. WENZIKER, K. und SCHRÖDER, A., Methakrylate als Einbettmedien in der Zahnhistologie. -
Schweiz. Mschr. Zahnk. 74, 591-603, 1964.
22. SHWACHMAN, H., und SCHUSTER, A., The tetracyclines: applied pharmacology. -
Pediat. Clin. N. Amer., 3, 295 - 297, 1956.
23. LOO, T.L., TITUS, E.D., RALL, D.P., Nature of fluorophore localizing in tetracycline-treated mouse tumor. -
Science, 126, 253 - 259, 1957.
24. IBSEN, K.H. und URIST, M.R., The biochemistry and the physiology of the tetracyclines. -
Clin. Orthop. and Rel. Res., 32, 143-168, 1964.
25. SALTZMAN, A., Fluorophotometric estimation of aureomycin in blood and urine. -
J. Lab. Clin. Med. 35, 123 - 126, 1950.
26. HELANDER, S. und BÖTTIGER, L.E., On the distribution of terramycin in different tissues. -
Acta med. scand. 147, 71-75, 1953.

27. RALL, D.P., LOO, T.L., LANE, M. und KELLY, M.G., Appearance and persistence of fluorescent material in tumor tissue after tetracycline administration. -
J. Nat. Cancer Inst., 19, 79- 83, 1957.
28. SAXEN, L., TAPANI, V., Tetracycline Fluorescence as a marker for detection of viral lesions in vitro. -
Nature, 201, 936/7, 1964.
29. DRAWERT, H., RÜFFER-BOCK, U., Fluorochromierung von endoplasmatischem Reticulum, Dictyosomen und Chondriosomen mit Tetracyclin. -
Ber. Dtsch. Botan. Ges. 77, 440-449, 1965.
30. FROST, H.M., An economical microfluorescende set up for detection of tetracycline in bone. -
VILLANUEVA, A.R., ROTH, H., Measurement of bone formation in a 57-year-old man by means of tetracyclines, Henry Ford Hosp. M. Bull., 8, 239- 245, 1960.
31. VANDERHOEFT, P.J., PETERSON, L.F., and KELLY, P.J.,
A method for correlative analysis of microradiogram and Tetracycline of puppy's bone. -
Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., 37, 229-231, 1962.
32. FROST, H.M., Tetracyclin labeling of bone and the zone of demarcation of osteoid seams. -
Canad. J. Biochem., 37, 229-231, 1962.
33. HARRIS, W.A., A microscopic method of determining rates of bone growth. -
Nature, London, 188, 1038-1043, 1960.
34. PEPPER, W.F., SLINGER, S.J., and MOTZOK, I., Effect of aureomycin on the niacin and manganese requirements of chicks. -
Poult. Sci., 32, 656-657, 1953.

35. BEVELANDER, G., Inhibition of skeletal formation in the chick embryo following administration of tetracycline. -
Nature, 184, 728-730, 1959.
36. DOWLING, H.F., Tetracyclines. Antibiotics monographs No. 6,
Medical Encyclopedia, Inc., New York, 1956.
37. ZIPKIN, J., LARSON, R.H., RALL, D.P., Reduced caries in offspring of rats receiving tetracycline during various prenatal and postpartum periods. -
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, 158-160, 1960.
38. DE VERBER, L.L., Photosensitivity, loosening of the nails, and discoloration of the nails and teeth in association with demethylchlortetracyclin (Declomycin). -
Canad. Med. Ass. J., 86, 168-172, 1962.
39. GALE, E.F., FOLKES, J.P., Biochem. J. 53, 439, 1953
Aus: Die Antibiotica I, 2. Teil, 502, 1962.
40. SNELL, J.F. and CHENG, L., Studies in metabolic spectra
II. Application of metabolic spectra to the investigation of the mode of action of oxytetracycline. -
Antibiotic. Ann. 538-545, 1957-1958.
41. WANG, Y., MANN, W., CHENG, L., WANG, T., YANG, Y.,
III. Int. Congr. Biochem., Brüssel 1955, aus:
Die Antibiotika I, 2. Teil, 502, 1962.
42. REDI, R. and OCHOA, S., Enzyme specificity in activation and transfer of aminoacids to ribonucleoprotein particles,
Science 133, 1367, 1961.

43. PRICE, K.E., ZOLLI, Z., Jr., ATKINSON, J.C., and LUTHER, H.G.,
Antibiotic inhibitors. II. Studies on the inhibitory action of
selected divalent cations for oxytetracycline. -
Antibiot. Chemother. 7, 689-693, 1957.
44. BRODY, T.M., HURWITH, R. and BAIN, J.A., Magnesium and the effect
of tetracycline antibiotics on oxidative processes in mito-
chondria. -
Antibiot. Chemother. 4, 864-867, 1954.
45. BRODY, T.M. and BAIN, J.A., Effect of aureomycin and terramycin on
oxidative phosphorylation. -
J. Pharmacol. Exp. Ther., 103, 338-347, 1951.
46. CREMA, A. and BAROLI, F., Azione della terramicina sulla respirazione
di alcuni germi e di alcuni tessuti,
Boll. Soc. ital. biol. sper. 29, 299-304, 1953.
47. VAN METER, J.C. and OLESON, J.J., Effect of aureomycin on the respi-
ration of normal rat liver homogenates. -
Science, 113, 273-275, 1951.
48. VAN METER, J.C., SPECTOR, A., OLESON, J.J. and WILLIAMS, J.H.,
In vitro action of aureomycin on oxidative phosphorylation in
animal tissues. -
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81, 215-221, 1952.
49. MULLI, K., UHLENBROOCK, K. und LUDWIG, L., Zum Wirkungsmecha-
nismus des Aureomycins. -
Arzneimittelforsch. 3, 559-563, 1953.
50. GHOSEZ, J.P., La microscopie de fluorescence dans l'étude du remanie-
ment haversien. -
Arch. biol. 70, 169-178, 1959.

51. BAUD, C.A., ET DUPONT, D.H., Sur la bifluorescence du tissu osseux traité par les tétracyclines. -
C.R. Acad. Sci. 254, 3129, 1962.
52. EGER, W. und BERGER, H.J., Experimentelle Beiträge zum Mineralisationsvorgang in Abhängigkeit von den Mukopolysacchariden der Grundsubstanz. -
Acta histochem. 22, 234-246, 1965.
53. LIENERT, G.A., Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. -
Meisenheim, 1962.
54. OWEN, L.N., The effects of administering tetracyclines to young dogs with particular reference to localisation of the drugs in the teeth. -
Arch. Oral Biol. 8, 715-727, 1963.
55. DOWLING, H.F., Tetracylin. Antibiotics Monographs No. 7,
Medical Encyclopedia, Inc., N.Y., 1955.
56. MUSSELMAN, M.M., Terramycin. Antibiotics Monographs No. 6,
Medical Encyclopedia, Inc., N.Y., 1956.
57. LEPPER, M.H., Aureomycin. Antibiotics Monographs No. 7,
Medical Encyclopedia, Inc., N.Y., 1956.
58. THER, L., HERGOTT, S., VOGEL, G., Arzneimittelforsch. 9, 63, 1962.
59. FILIPPI, B., MELA, V., Malformazioni congenite facciali e degli arti da tetraciclina. -
Minerva chir. 12, 1, 1957.
60. BEVELANDER, G., COHLAN, S.Q., The effect on the rat fetus of transplacentally acquired Tetracyclini. -
Biol. Neonat. 4, 365-370, 1962.

61. KIENITZ, M., Zahnveränderungen nach Tetracyclintherapie. -
Pädiat. Prax. 5, 347-353, 1966.
- 61a. KIENITZ, M., Prof. Dr. med., Kinderklinik, Offenbach am Main.
Pers. Mitteilung anlässlich des Stomatologischen Kolloquiums
über "Zahnveränderungen durch Tetracyclin bei Kindern" am
Zahnärztl. Inst. der Universität Giessen (Jan. 1968).
62. BOYDE, A., The structure and development of mammalian enamel. -
Ph. D. Thesis, Univ. of London, 1964.
63. HARCOURT, J.K., JOHNSON, N.W., STOREY, E., In vitro incorporation
of tetracycline in the teeth of man. -
Arch. Oral Biol. 7, 431, 1962.
64. WALLMAN, J.S., HILTON, H.B., Teeth pigmented by tetracycline. -
The Lancet I, 827-829, 1962.
65. HAKALA, P.E., MÄKELÄ, P., Tetracycline an prematures Suomen
hammaslääk, toim. 59, 284-293, 1963.
66. WEYMAN, J., PORTEOUS, J.R., Tetracycline and yellow teeth. -
The Lancet I, 827-829, 1962.
67. WEYMAN, J., PORTEOUS, J.R., Discoloration of teeth, possibly due to
administration of tetracyclines. -
Brit. Dent. J. 113, 51-54, 1962.
68. ZEGARELLI, E.V., DENNING, C.R., KUTSCHER, A.M., TUOTI, F.,
DI SANT'AGNESE, A.P., Discoloration of teeth in patients
with cystic fibrosis of the pancreas. -
N.Y. State dental J. 27, 237-238, 1961.

Es ist mir ein ganz besonderes Anliegen Herrn Professor Dr. Dr. A. Keil für die Überlassung des Themas und des Materials, für die erteilten Ratschläge und Anregungen, sowie für die Übernahme des Referates und die mir gebotene Arbeitsmöglichkeit am Zahnärztlichen Institut aufrichtig zu danken.

Besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. habil. H. Kirschner für seine vielfältigen Hinweise zum tier-experimentellen und histologischen Teil meiner Arbeit.

Der Firma Ernst Leitz, besonders Herrn Kristen (Abteilung: Mikrolabor) sei ebenfalls Dank für die mir geleistete Unterstützung gesagt.

Für die phototechnische Hilfe danke ich ausserdem Fräulein Schmidt vom Zahnärztlichen Institut Giessen.

Lebenslauf:

Als Sohn des Arztes Dr. Peter Rauscher und seiner Ehefrau Dora, geb. Zürcher, wurde ich am 2. November 1940 in Bern geboren.

In Thun besuchte ich die Primarschule, das Progymnasium und das Gymnasium, an dem ich im Herbst 1959 die Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Zahnheilkunde begann ich im Winter-Semester 1959 und beendete es am 5. Mai 1966 an der Universität in Bern mit der Erlangung der Approbation als Zahnarzt.

Ab Januar 1967 widmete ich mich vorliegender Dissertation und war zeitweilig als Volontär-Assistent an der Poliklinik des Zahnärztlichen Institutes der Justus Liebig-Universität in Giessen tätig.

Vom 1. November bis 31. März erhielt ich ein Promotions-Stipendium der "Stiftung-Volkswagenwerk".

Im Januar 1968 war es mir möglich, anlässlich der Tagung der Arbeitsgemeinschaft für zahnärztliche Grundlagenforschung in Würzburg, in einem Kurz-Referat über vorliegende Ergebnisse meiner Arbeit zu berichten.

Schreibdruck in Spezialschrift

Chemoprin^{OHG}

Gießen